

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



***Klebsiella pneumoniae* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK
DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK
TESPİT EDİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Nurjemal ANNALYYEVA

Danışman

Doç. Dr. Kemal BİLGİN

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Nurjemal ANNALYYEVA tarafından, Doç. Dr. Kemal BİLGİN danışmanlığında hazırlanan “*KLEBSİELLA PNEUMONİAE* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK TESPİT EDİLMESİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 17.8.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Kemal BİLGİN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Mustafa Kerem ÇILGIN Ordu Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

12 / 09 / 2023

Nurjemal ANNALYYEVA

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK TESPİT EDİLMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 22.06.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 7

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

12 / 09 / 2023

Doç. Dr. Kemal BİLGİN

ÖZET

KLEBSIELLA PNEUMONIAE İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK TESPİT EDİLMESİ

Nurjemal ANNALYYEVA
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Ağustos/2023
Danışman: Doç. Dr. Kemal BİLGİN

Klebsiella pneumoniae üriner sistem, kan, solunum, yumuşak doku, pnömoni ve bakteremi gibi nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan genellikle immünsupresif ve hastanede yatan hastaları etkileyen fırsatçı bir patojendir. Bu mikroorganizmanın çoklu ilaca direnç geliştirmesi ve enfeksiyonlarının yüksek mortalite oranları nedeniyle dünya çapında bir tehdit haline geldiği düşünülmektedir.

Bakterilerin antibiyotiklere karşı direncini tespit etmede rutin kullanılan standart yöntemler en az bir gün içinde sonuç vermektedir. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarını kısa sürede sağlayabilecek yeni yöntemlerin geliştirilmesi antibiyotik tedavinin erken başlatılmasında, geniş spektrumlu antibiyotiklerin gereksiz kullanımını azaltmada ve bunun sonucu bakterilerde direnç geliştirme riskini minimuma indirmede katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çalışmaya Haziran 2021 - Ağustos 2022 tarihleri arasında, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Bakteriyojoloji Laboratuvarı'na çeşitli servislerden rutin olarak gönderilen kan örneklerinden izole edilen 139 *K. pneumoniae* izolatı dahil edilmiştir. Çalışmada mikrodilüsyon ve resazurin mikropalak yöntemleri çalışılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen izolatların gentamisin ve meropenem için mikrodilüsyon yöntemi sonuçları ile resazurin mikropalak yöntemi sonuçları karşılaştırılmıştır. Buna göre gentamisin için 6. saat sonuçları Kategorik Uyum %99.28, Temel Uyum %92.08, Büyük Uyumsuzluk %0 ve Çok Büyük Uyumsuzluk %1.53 olarak tespit edildi. Gentamisin için 7. saat sonuçları Kategorik Uyum %99.28, Temel Uyum %96.40, Büyük Uyumsuzluk %0 ve Çok Büyük Uyumsuzluk %1.53 olarak tespit edildi.

Meropenem için 6. saat Kategorik Uyum %97.12, Temel Uyum %91.36, Küçük Uyumsuzluk %2.87, Büyük Uyumsuzluk %0 ve Çok Büyük Uyumsuzluk %0 olarak tespit edildi. Meropenem için 7. saat Kategorik Uyum %97.12, Temel Uyum %92.08, Küçük Uyumsuzluk %2.87, Büyük Uyumsuzluk %0 ve Çok Büyük Uyumsuzluk %0 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, elde edilen resazurin mikropalak yönteminin altıncı ve yedinci saat sonuçları açısından önemli bir fark görülmemiştir. Bu sonuçlara göre resazurin mikropalak yönteminin *K. pneumoniae* izolatlarında gentamisin ve meropenem duyarlılığının altıncı saatin sonunda ek bir cihaza ihtiyaç duymadan minimum inhibitör konsantrasyonu sonuçlarının elde edilmesine olanak sağlama potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: *K.pneumoniae*, Gentamisin, Meropenem, Resazurin

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY IN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ISOLATES USING RAPID METHOD

Nurjemal ANNALYYEVA
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Medical Microbiology
Master, August/2023
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kemal BİLGİN

Klebsiella pneumoniae is an opportunistic pathogen that causes nosocomial infections in urinary tract, blood, respiratory organs and soft tissues, pneumonia and bacteremia, usually affect immunosuppressive and hospitalized patients. It is thought that this microorganism has become a worldwide threat due to the development of multidrug resistance and the high mortality rates of its infections. Standard methods used routinely to detect the resistance of bacteria to antibiotics give results in at least one day. It is thought that the development of new methods that can provide antibiotic sensitivity results in a short time will contribute to the early initiation of antibiotic therapy, reducing the unnecessary use of broad-spectrum antibiotics and, as a result, minimizing the risk of developing resistance in bacteria.

Between June 2021 and August 2022, 139 *K pneumoniae* isolates from blood samples routinely sent to Ondokuz Mayıs University Medical Faculty Hospital Bacteriology Laboratory from various services were included in the study. Microdilution and resazurin microplate methods were used in the study. The results of the standard microdilution method for gentamicin and meropenem of the isolates included in the study were compared with the results of the resazurin microplate method.

Accordingly, the 6th hour results for gentamicin were Categorical Agreement 99.28%, Essential Agreement 92.08%, Major Error 0% and Very Major Error 1.53% detected. At the 7th hour, Categorical Agreement 99.28%, Essential Agreement 96.40%, Major Error 0% and Very Major Error 1.53% was detected.

For meropenem, the 6th hour Categorical Agreement 97.12%, Essential Agreement 91.36%, Minor Error 2.87%, Major Error 0% and Very Major Error was 0% detected. At the 7th hour, Categorical Agreement 97.12%, Essential Agreement 92.08%, Minor Error 2.87%, Major Error 0% and Very Major Error 0% was detected.

As a result, there was no significant difference in the sixth and seventh hour results of the resazurin microplate method. According to these results, the resazurin microplate method has the potential to allow minimum inhibitory concentration results of gentamicin and meropenem sensitivity in *K. pneumoniae* isolates at the end of the sixth hour without the use of an extra device.

Keywords: *K.pneumoniae*, Gentamicin, Meropenem, Resazurin

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren, çalışmaların her aşamasında sabırla, anlayışla dinleyip desteğini benden esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Kemal BİLGİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma prensiplerinden örnek aldığım yardımseverlikleriyle desteklerini gördüğüm her konuda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ, Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI ve Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜR VURAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Büyük fedakârlık ve emekle bugünlere getiren, hayatımın her anında yanımda olduklarını hissettiğim, en büyük ve en güzel eğitimi kendilerinden aldığım, haklarını asla ödeyemeyeceğim canım annem Ogulbeg Annalyyeva ve sonsuza kadar kalbimde yaşatacağım canım babam Berdimyrat Annalyyev'e, her daim desteklerini esirgemeyen abilerime ve ablalarımın en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Her daim manevi desteklerini kalbimde hissettiğim sevgili Karaahmet ailesine teşekkürü bir borç bilirim.

Tanıdığım günden beri birçok anıyı paylaştığım ve kendilerini tanıdığım için mutluluk duyduğum yüksek lisans arkadaşlarıma, eğitimim boyunca gerek laboratuvar gerekse teorik konuda destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistanlarına, Arş. Gör. Kübra Hacıeminoğlu Ülker'e ve başta Biyolog Hilal Çarıkçı ve laboratuvar teknikeri İlkay Köksal olmak üzere tüm laboratuvar çalışanlarına çok teşekkür ederim. Aynı zamanda gerek akademik hayatta gerek özel hayatımda yardımlarını hiç esirgemeyen Dr. Sare Kaya Daştan'a ve Arş. Gör. İlknur BIYIK'a, çok teşekkür ederim.

Nurjemal ANNALYYEVA

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> ailesi	3
2.2. <i>Enterobacteriaceae</i> Ailesinin Genel Özellikleri ve Morfolojileri	3
2.3. <i>Klebsiella</i> Türleri	4
2.3.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
2.3.2. Taksonomi	5
2.3.3. Biyokimyasal Özellikleri	6
2.3.4. Virülans Faktörleri	6
2.3.4.1. Hipermukoviskozit (HV)	7
2.3.4.2. Demir Alım Determinantları	7
2.3.4.3. Biyofilm Oluşturma	7
2.3.4.4. Kapsül	8
2.3.4.5. Pilus (Fimbria)	8
2.3.4.6. Lipopolisakarit (LPS)	8
2.3.4.7. Serum Direnci	8
2.3.5. Epidemiyoloji ve Patogenez	9
2.3.6. <i>K. pneumoniae</i> Enfeksiyonlar	10
2.4. Kan Kültürü	10
2.5. Antimikrobiyal Ajanlar	11
2.5.1. Meropenem	11
2.5.2. Gentamisin	11
2.6. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (ADT)	12
2.6.1. Fenotipik Yöntemler	12
2.6.1.1. Disk Difüzyon Testi	13
2.6.1.2. Gradient Difüzyon Testi	13
2.6.1.3. Agar Dilüsyon Testi	13
2.6.1.4. Makrodilüsyon Testi	14
2.6.1.5. Mikrodilüsyon Testi	14
2.6.2. Otomotize Sistemler	15
2.6.3. Moleküler Yöntemler	15
2.7. Hızlı Antibiyotik Duyarlılık Yöntemler	16
2.7.1. Alamar Mavisi (Resazurin) Testi	16
3. MATERYAL VE METOT	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen Bakteriler	18
3.2. Metot	18
3.2.1. İzolatların Tanımlanması	18
3.2.2. Besiyerinin Hazırlanması	18
3.2.3. Resazurin Stoklarının Hazırlanması	18
3.2.4. Antibiyotik Stokunun Hazırlanması	18
3.2.5. Plakların Hazırlanması	19
3.2.6. İnokülasyon İşleminin Yapılması	19

3.2.7. Resazurin Mikroplak Yöntemi.....	19
3.2.8. İstatistiksel Yöntem	20
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	21
4.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntem ve Resazurin Mikroplak Yöntem Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	21
4.1.1. Gentamisin Sonuçları.....	21
4.1.2. Meropenem Sonuçları.....	25
4.2. Tartışma	31
5. SONUÇ	37
KAYNAKLAR	38
EKLER	44
ÖZGEÇMİŞ.....	45



SİMGELER VE KISALTMALAR

ADT	: Anti Mikrobiyal Duyarlılık Testi
ATCC	: American Type Culture Collection
CLSI	: Clinical and Laboratory Standarts Institute
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
E test	: Epsilometre Testi
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
EMB	: Eosin Methylene Blue agara
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
HV	: Hipervirülan
KAMHB	: Katyon ayarlı Mueller-Hinton broth
LPS	: Lipopolisakarit
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
PBP	: Penisilin bağlayıcı proteinler
R	: Dirençli
S	: Duyarlı
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. İzolatların servislere göre dağılım grafiği	21
Şekil 4.2. Gentamisin resazurin testi 6. saat plağı	24
Şekil 4.3. Gentamisin resazurin testi 7. saat plağı	25
Şekil 4.4. Meropenem resazurin testi 6. saat plağı.....	28
Şekil 4.5. Meropenem resazurin testi 7. saat plağı.....	29



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. <i>K. pneumoniae</i> 'nin taksonomisi	5
Tablo 2.2. <i>K. pneumoniae</i> Biyokimyasal özellikleri.....	6
Tablo 4.1. İzolatların gentamisin mikropalak, resazurin mikropalak 6. ve 7. saat MİK sonuçları.....	22
Tablo 4.2. İzolatların meropenem mikropalak, resazurin mikropalak 6. ve 7. saat MİK sonuçları.....	25
Tablo 4.3. Resazurin mikropalak ve mikrodilüsyon yöntemden elde edilen MİK sonuçlarının uyum oranı.....	30
Tablo 4.4. Resazurin mikropalak yönteminin hata ve uyum oranları	31



1. GİRİŞ

Sağlıklı bireylerde cilt ve nazofarinksin de kolonize olabilen *Klebsiella pneumoniae* izolatları, normal bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olup idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni, bakteriyemi ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların etkeni olarak karşımıza çıkabilmektedirler (Follador et al., 2016). Özellikle hastane ortamından izole edilen *Klebsiella* 'ların farklı antibiyotiklere karşı dirençli olmalarından dolayı önemi artmıştır (Tünger vd., 2005).

2019'da yapılan bakteriyel antimikrobiyal direncinin sistematik analizinde, bakterilerin antibiyotik direnci ile ilişkili ölüme neden olan altı patojen sıralamasında *Klebsiella pneumoniae* 'nin de yer alması bu mikroorganizmanın önemini bir kez daha ortaya koymaktadır (Murray et al., 2022).

Antimikrobiyallere karşı mikroorganizmaların direnci tüm dünyada küresel bir sorun haline gelmiştir. Özellikle uluslararası seyahatin kolaylığı ve yaygınlığı sonucu, çok ilaca dirençli (MDR) olan patojenlerin dünya çapında yayılımı artmaktadır (Singh et al., 2017). Aynı zamanda toplumda antibiyotiklerin bilinçsiz tüketilmeside patojen bakterilerinin antibiyotiklere karşı direnç oluşturma sürecini kısaltmakta ve önemli bir sorun haline gelmektedir (Çiftci ve Aksoy, 2015).

Küresel olarak artmakta olan antibiyotik direnci, bakterilerin neden olduğu enfeksiyon oranlarını da yönlendirdiği düşünülmekte ve insan sağlığı için önemli bir tehdit olarak kabul edilmektedir (Follador et al., 2016). Antibiyotiklerin araştırılması ve geliştirilmesi sürecinde gram negatif basiller başta olmak üzere çoklu ilaca dirençli olan patojenler, küresel bir öncelik olarak kabul edilmektedir (Singh et al., 2017).

Antimikrobiyal direncinin kazanılması biyokimyasal reaksiyonlar ile oluşur ve bunun temelinide üç genetik mekanizma oluşturmaktadır. Bunlar; kromozomal genlerin mutasyon geçirmesi, direnç genlerinin dışardan alınması veya dışardan alınan genlerin mutasyona uğramasıdır (Gür, 2004).

Direncin önlenmesi için, antibiyotiklerin doğru şekilde kullanılması, sürveyansın çalışmalarının titizlikle yapılması, enfeksiyonu önleme ve kontrol altına alınma çabalarının geliştirilmesi gerekmektedir (Singh et al., 2017).

Küresel çapta antibiyotiğe dirençli bakteriler hızla artış gösterirken, enfeksiyonu ayırt edebilen, tedaviye yol gösterebilen, antibiyotiklerin gereksiz kullanımını en aza

indirebilen ve belirli hastaların terapötik stratejileri özelleştirebilen teknolojiler yavaş kalabilmektedir (Syal et al., 2017).

Antimikrobiyal duyarlılık testleri (ADT), bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde en iyi terapötik tedavinin seçiminde uygun antibiyotiklerin reçete edilmesini ve enfekte bireylerde olası dirençli patojenlerin ortaya çıkışını takip etmeyi amaçlamaktadır. Ayrıca antimikrobiyal duyarlılık testleri, enfeksiyonun önlenmesinde ve kontrol edilmesinde, önemli olan tanımlanmış direnç mekanizmalarına sahip izolatların tanımlanmasında da yardımcı olabilmektedirler. Aynı zamanda epidemiyolojik çalışmalarda direnç insidansı ve prevalansının değerlendirilmede önemli anahtardır (Van Belkum et al., 2019). Antibiyotik duyarlılık testleri patojenlerin neden olduğu enfeksiyona en etkili antibiyotik tedavisini uygulamak ve bilinen bir bakteri türünün antibiyotiğe dirençli hale gelip gelmediğini gözlemeyi sağlamaktadır (Heller and Spence, 2019).

Klinik laboratuvarlar günümüzde sağladıkları ekipman ve laboratuvar testlerine bağlı olarak birçok antimikrobiyal duyarlılık yöntemlerini kullanmaktadırlar (Gajic et al., 2022). Fakat klinik mikrobiyolojide antimikrobiyal duyarlılığın profilini anlamak için kullanılan teknolojiler zaman alıcı ve nispeten pahalıdır. Bunun sonucunda da hastaya genellikle ampirik antimikrobiyal tedaviler ve geniş spektrumlu antibiyotikler reçete edilmektedir. Antimikrobiyal direncin sürekli olarak artmasıyla, antimikrobiyal duyarlılık için yenilikçi, hızlı, doğru ve tekrarlanabilir yöntemlerin ve araçlarının geliştirilmeye ihtiyacı vardır (Gajic et al., 2022).

Çalışmamızda; resazurin mikropalak yöntemi ile *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında meropenem ve gentamisin duyarlılığının erken tespiti araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Enterobacteriaceae* Ailesi

Enterobacteriaceae ailesi gram negatif basillerden oluşan oldukça geniş ve heterojen bir topluluktur. Enterik bakteriler, enterik gram negatif basiller veya koliform bakteriler olarakta isimlendirilmektedirler. *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakteriler hastane enfeksiyonları yönünden önemli patojenlerdir (Gür, 2004).

Bu aileye ait türler hatane enfeksiyonları yönünden önemli olan bütün izolatların yarısını, izole edilen patojen gram-negatif izolatların %80'ini ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan izolatların ise %70'ini oluşturmaktadırlar (Zarakolu, 2004). *Enterobacteriaceae* grubu bütün dünyada, doğada, insanlarda ve hayvanlarda bulunarak önemli potojenik potansiyeline sahip çok yaygın mikroorganizmaları içermektedir (Brenner and Farmer Lii, 2015). Ailenin 50 cinsi, 100'den fazla türü ve alt türü tanımlanmış olsada, bunlardan az sayıdaki tür insanlarda hastalığa neden olmaktadır. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* gibi türleri insanların normal kommensal florasında bulunarak fırsatçı enfeksiyonlara neden olurlarken, *Salmonella* serotip Typhi, *Shigella* türleri, *Yersinia pestis* gibi bazıları da her zaman hastalık ile ilişkilidir (Zarakolu, 2016).

Enterobacteriaceae ailesi üç majör antijen grubuna göre serolojik olarak sınıflandırması yapılır. Bu antijenler kapsülde bulunan K antijeni, somatik O polisakkaritleri, ve hareketli türlerinin flajellasında bulunan H proteinleridir. Her bir suşa özgül olan O antijenleri her cinste ve türde bulunmaktadır (Zarakolu, 2016).

2.2. *Enterobacteriaceae* Ailesinin Genel Özellikleri ve Morfolojileri

Enterobacteriaceae ailesinin üyeleri 0,3-1 µm genişliğinde, 0,6-6,0 µm uzunluğunda olup, çoğu türleri peritriş flagellaları sayesinde hareketliken bazılarıda hareketsizdir. Aerobik ve anaerobik ortamlarda üreyebilen bu bakteriler düzgün kenarlı koloni oluşturan, sporsuz, basil veya kokobasillerdir. MacConkey agar gibi çeşitli seçici ve kanlı agar gibi seçici olmayan besiyerlerinde hızla üreyebilmektedirler (Kaleli, 2009). Bazıları glikozu tek karbon kaynağı olarak kullanırken, bazılarıda glikozu parçalayarak asit oluştururlar ve birçoğu da gaz oluşturur (Bilgehan, 2009). Oksidaz reaksiyonu negatif, katalaz pozitif ve nitratı nitrite indirgerler (Morales-Lopez, 2019). Ayrıca *Enterobacteriaceae*'nin sitokrom oksidaz aktivitelerinin

olmamasıda diğer birçok fermentatif ve non-fermentatif gram-negatif basillerden ayırt edilmesini sağlayan özelliğidir. Sitokrom oksidaz aktivitesi basit ve hızlı bir test ile kolayca saptanabilmektedir (Zarakolu, 2016).

2.3. *Klebsiella* Türleri

Klebsiella cinsindeki çeşitli suşlar değişime uğrayarak dünya çapında önemli bir klinik ve halk sağlığı tehdidi haline gelmiştir (Dong et al., 2022). *Klebsiella* cinsinde önde gelen klinik önemi olan türler *K. pneumoniae*, *K. ornithinolytica*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. planticola*, *K. terrigena* olarak sıralanabilmektedir (Erdem, 1999). Besiyerlerinde geniş M koloni oluşturması ve tümünün hareketsiz olması *Klebsiella* cinsin en belirgin özelliğidir (Tünger et al., 2005). Kalın ve belirgin bir polisakkarit kapsül tabakası türlerin agar besiyerinde büyük, mukoid koloniler yapması ve gram boyama ile geniş görüntü oluşturmasını sağlamaktadır (Erdem, 1999). Glikozlu ve kanlı besiyer ortamında en iyi kapsüllenme görülür. McConkey agarda pembe mukoid, Eosin Methylene Blue (EMB) agarda morumsu, Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agarda sarı ve Salmonella Shigella (SS) agarda pembe koloni oluşturmaktadırlar (Bilgehan, 2009).

Klebsiella'ların kolonizasyonunu destekleyen durumların, hastanın hastanede uzun süre kalması, damar içi veya üriner kateterinin uygulanması, geçirmiş olduğu operasyon öyküsünün olması ve antimikrobiyallerin fazla kullanılmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Terzi vd., 2013). Hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu olan patojen bakteriler içerisinde *Klebsiella* türleri ilk on sırada yer almaktadır (Yenen, 2015). Yatan hastalarda kolonizasyon oranı iki ile dört kat daha arttığı gözlemlenmiştir. Bu hastalarda dışkıda %77, farenkste %19 ve ellerde %42 oranında taşınmaktadır. *Klebsiella* türlerine bağlı olarak gelişen hastane enfeksiyonlarının; %6-17 üriner sistem enfeksiyonlarında, %7-14 pnömonilerde, %4-15 sepsislerde, %2-4 yara enfeksiyonlarında ve %4-17 oranında yoğun bakım ünitelerinde etken olarak saptanmıştır. Yenidoğan sepsislerinde ise %3-20 oranında izole edilmiştir (Podschun 1998). Kan dolaşımı enfeksiyonlarında da yaygın etkiye sahip olabilen *Klebsiella* türleri dokuzuncu sırada yer almaktadır (Kaleli, 2009).

Klebsiella'nın klinikte en sık izole edilen türleri *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* dır. Bunlar; üriner sistem enfeksiyonlarına, cerrahi alan enfeksiyonlarına, bakteriyemiye, pnömoniye, çeşitli organ apselerine neden olmaktadır (Terzi et al., 2013).

2.3.1. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella türleri içinde enfeksiyona en sık neden olan tür *K. pneumoniae*'dir. Sağlıklı bireylerin bağırsak ve solunum yolu florasında %5 oranında bulunmaktadır (Tünger et al., 2005).

K. pneumoniae hastane ortamında bağışıklığı baskılanmış bireyler arasında nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan en önemli toplumsal fırsatçı patojenlerden biri olarak kabul edilmektedir (El Fertas-Aissani et al., 2013). Ancak hipervirulent suşların ortaya çıkması sonucu son zamanlarda yayılma hızını ve enfeksiyonlara karşı duyarlı kişilerin sayısını, sağlıklı ve bağışıklığı baskılanmamış kişileri kapsayacak şekilde genişlemiştir (Paczosa et al., 2016). *K. pneumoniae* pnömoni (Friedlaender pnömonisi) oluşturduğu enfeksiyonlarda balgamdan, üriner sistem enfeksiyonlarında idrardan, menenjitte BOS'dan ve sepsisemide kandan izole edilmektedirler (Bilgehan, 2009).

K. pneumoniae'nin karbapenemler karşı direnç yüzdesi AB/EEA (Avrupa Birliği/ Avrupa Çevre Ajansı) verilerine göre nüfus ağırlıklı ortalama 2012'de %6,2'dan 2015 yılında %8,1'e yükselmiştir (Summary of the latest, 2016).

2.3.2. Taksonomi

Enterobacteriaceae ailesinde bulunan *Klebsiella* cinsi ismini Alman mikrobiyolog Theodor Albrecht Edwin Klebs'in ismini almıştır. Ancak Carl Friedlander tarafından pnömoniden ölen bir hastanın akciğerinden ilk kez izole edilen *K. pneumoniae* uzun yıllar 'Friedlander basili' olarak anılmıştır. Daha sonraki yıllarda ise mikroorganizma Schroeter tarafından "*Hyalococcus pneumoniae*" olarak isimlendirilmiştir. 19'uncu yüzyılın sonlarında ise Trevisan tarafından Edwin Klebs onuruna "*Klebsiella pneumoniae*" diye ismi değiştirilmiştir (Ristuccia ve Cunha, 1984, Grimont ve Grimont, 2015). *K. pneumoniae*'nin taksonomisi Tablo 2.1'de görülmektedir.

Tablo 2.1. *K.pneumoniae* 'nin taksonomisi

Alem: Bacteria
Şube: Proteobacteria
Sınıf: Gammaproteobacteria
Takım: Enterobacterales
Aile: <i>Enterobacteriaceae</i>
Cins: <i>Klebsiella</i>
Tür: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

2.3.3. Biyokimyasal Özellikleri

K. pneumoniae şekerleri asit ve gaz oluşturarak parçalamaktadır. Bağırsak bakterilerinden farklı olarak nişastayı en geç dört gün içerisinde parçalamakta ve gaz oluşturmaktadırlar (Bilgehan, 2009).

Triple Sugar Iron (TSI) besiyerinde H₂S negatiftir ve fenilalanini deamine etmemektedirler. Bu besiyerin dip kısmında asit (sarı) yatık kısmında alkali (kırmızı) reaksiyonu vererek gaz oluşturmaktadırlar (Bilgehan, 2009).

Başlıca diğer bazı biyokimyasal özellikleri, triptofandan indol oluşturmamaları, laktozu fermentasyonu ve üreaz enzime sahip olmalarıdır (Tünger et al., 2005). *K. pneumoniae*'nın biyokimyasal özellikleri Tablo 2.2'de görülmektedir.

Tablo 2.2. *K. pneumoniae* Biyokimyasal özellikleri (Bilgehan, 2009; Erdem, 1999)

İndol	-
Metil red	-
Voges Proskauer (VP) testi	+
Citrat	+
Üreaz	+
H ₂ S	-
44,5°C de laktozdan Gaz	+
+10°C de üreme	-
Laktoz	+
Sukroz	+
Malonat	+
Lizin	+
Arjinin	-
Ornitin	-
Sorbitol	+
Adonitol	+
DNase (25°C)	-
Jelatinaz (22°)	-
Arabinoz	+

2.3.4. Virülans Faktörleri

Konak hücrelerine girerek enfeksiyonu başarmak için, *K. pneumoniae* önce mekanik ve kimyasal engelleri aşarak konağın hümmoral bağışıklığı ve hüccresel bağışıklığı tarafından tanınmaktan kaçınmalıdır (Wang et al., 2020). Bu durumda *K. pneumoniae* çeşitli virülans faktörleri kullanarak konakçı hücrede kolonize olabilir ve çoğalabilir (Effah et al., 2020). Klinik olarak çoklu ilaca dirençli ve hipervirülan *K. pneumoniae* (hvKP) izolatlarının keşfedilmesiyle birlikte bu izolatların coğrafyada hızla yayılması birer tehdit haline gelmiş ve endişeye neden olmuştur (Wang et al., 2020).

K. pneumoniae konak savunma mekanizmalarını aşabilmek için çok sayıda farklı virölans faktörüne sahiptir. Bunlardan bazıları; kapsül polisakkarid, biyofilm, hipermukoviskozite (HV), fimbriya (pilus) ve fimbriya olmayan adezinler, lipopolisakarit (LPS), demir alım determinantları ve serum bakterisidal direnci olarak sıralanabilmektedir (Kuş et al., 2017; Kaleli et al., 2006).

Virölans faktörleri sayesinde, *K. pneumoniae* izolatları doğal konak bağışıklık sisteminden kaçarak, konakçıda uzun süre hayatta kalıp enfeksiyonunu sürdürebilme kabiliyeti kazanmaktadır (El Fertas-Aissani et al., 2013).

2.3.4.1. Hipermukoviskozit (HV)

K. pneumoniae'de HV fenotipleri bakterinin invaziv sendromu ve demir bağlama aktivitesi ile ilişkili olup, virölansın artmasında katkı sağladığı düşünülmektedir (Kuş et al., 2017).

2.3.4.2. Demir Alım Determinantları

Mikroorganizmaların hayatta kalması için en önemli maddelerden biri demirdir (Kuş et al., 2017). Demiri elde etme yetenekleri, bakterilerin konakçıda enfeksiyon oluşturabilmesi için büyümesinde ve çoğalmasında kritik öneme sahiptir (Kaleli et al., 2006, Wang et al., 2020). Düşük molekül ağırlıklığına sahip sideroforlar demiri bağlamada yardımcı olan virölans faktörüdür (Kaleli et al., 2006).

K. pneumoniae'de dört farklı demir taşıyıcı molekül bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla enterobaktin, yersiniabaktin, salmochelin ve aerobaktindir (Wang et al., 2020). Enterobaktin (fenolat) ve aerobaktin (hidroksamat) bağırsakta bulunan suşlarda bulunmaktadır. (Kaleli et al., 2006). Enteromisin hem tipik suşlarda hem de oldukça virulent suşlarda bulunmaktadır. Aynı zamanda demir içinde en yüksek afiniteye sahiptir ve ana demir emilim sistemi olarak kabul edilmektedir. Bir diğer demir taşıyıcı molekül olan salmochelin ise invaziv hastalıklarla ilişkilidir. *K. pneumoniae*'nin oldukça virulent suşlarında bulunarak, karaciğer apsesi ve pnömoni gibi ciddi toplumsal enfeksiyonlara neden olmaktadır (Wang et al., 2020).

2.3.4.3. Biyofilm Oluşturma

K. pneumoniae'nin biyofilm oluşturma yeteneği diğer bir önemli virölans faktörüdür. Biyofilm, bakterilerin bir araya gelip, biyotik veya abiyotik yüzeylere tutunarak kendi ürettikleri organik polimer matriks içine gömülmesidir. Bakterilerin

ekzopolisakkarit matriks içerisinde kümeler halinde bulunması sonucu humoral immün sistem bileşenlerinin bakterilere ulaşmaları engellenir ve fagosite edilmesi güçleştirir (Kuş et al., 2017).

2.3.4.4. Kapsül

Kapsüller polisakkaritler hem bakterinin konak fagositozuna karşı direnci sağlayan hem de bakterisidal serum faktörleri tarafından bakterinin öldürülmesini engelleyen önemli bir virülans faktörüdür (Kuş et al., 2017).

K. pneumoniae'nin plazmitin de bulunan RmpA, kapsüller polisakkaritin sentezini düzenlemesini yapan virülans faktördür. RmpA'yı taşıyan izolatlar, yüksek mukuslu hvKP'nin fenotipidir ve karaciğer absesi gibi pürülan doku enfeksiyonlarına önemli ölçüde neden olmaktadır. *K. pneumoniae*'yi konak hücrenin bağışıklık sisteminden korumada kapsül önemli bir rol oynamasına rağmen, farklı faktörlerde virülansına neden olabilir (Wang et al., 2020).

2.3.4.5. Pilus (Fimbria)

K. pneumoniae'de adezinler tip 1 ve tip 3 pilus tarafından sağlanır ve bakteriyi epitelyal hücrelere, bağışıklık hücrelere ve abiyotik yüzeylere yapışmasını destekler (Wang et al., 2020).

2.3.4.6. Lipopolisakarit (LPS)

Aslında, *K. pneumoniae* suşlarındaki LPS kısmen değiştirilebilir. Bazı suşlar ise kapsülü kullanarak LPS'yi kamufle ederler ve konakçı hücre tarafından tanınmazlar. Bu modifikasyonlar sonucu bakterilere karşı klirens azalmakta ve enflamatuvar yanıt inhibe edilmektedir (Wang et al., 2020).

2.3.4.7. Serum Direnci

Enfeksiyonun gelişimi sonucu konağın ilk savunma basamakları serumun bakterisidal etkisi ve polimorfonuklear lökositlerle fagositozudur. Serumun bakterisidal etkisi kompleman proteinleriyle ilişkili olup, ozmolarite ile bakterilerin seruma karşı direnci değişebilmektedir (Kaleli et al., 2006).

Gram negatif bakterilerin kommensal suşlarının çoğu serumun bakterisidal etkisine duyarlı iken patojen suşları dirençlidir (Kaleli et al., 2006). Fakültatif gram-negatif bakterilere karşı normal insan serumunun bakterisidal etkisi araştırmalar sonucu, dışkı örneklerinden ve lokal enfeksiyonlardan izole edilen suşların genellikle

serumun öldürme aktivitesine duyarlı olduğu, kan kültürlerinden izole edilen suşların ise genellikle dirençli olduğu gösterilmiştir (Casciato et al., 1979).

Türkiye’de yapılan bir araştırmada *Klebsiella* cinsinin suşlarında %29-77 oranında serum direnci bildirilmiştir. Podschun vd. tarafından yapılan bir araştırmada hastanede izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının %25’de serum direnci olduğu gösterilmiştir. Çevresel faktörlerin ve LPS’in seruma karşı direncinin etkisi sonucu, aynı izolat farklı ortamlara konduğunda seruma duyarlılığının değişebileceği belirtilmektedir (Podschun, 2001).

2.3.5. Epidemiyoloji ve Patogenezi

Klebsiella türleri hastane enfeksiyonlarının %8’inden sorumlu olarak bilinmektedir. Hastanede yatan hastalardaki üriner enfeksiyonların %9’una ve tüm primer bakteriyemilerin %14’üne *Klebsiella* türlerinin neden olduğu yapılan araştırma sonucu bildirilmiştir (Ustaçelebi, 1999). *Klebsiella*’nın enfeksiyonlarla ilişkili suşları, hipervirulent olarak kabul edilmektedir. Epidemiyolojik çalışmaların sonucu bu suşların benzer bazı genetik özellikleri paylaştığını göstermektedir (Bengoechea ve Pessoa, 2019).

Klebsiella’nın yetmişten fazla K antijen tipi tanımlanmıştır. Tipe özgü K antiserumlar *Klebsiella*’nın neden olduğu enfeksiyonların epidemiyolojik yönden incelenmesinde yarar sağlamaktadır (Ustaçelebi, 1999).

K. pneumoniae sağlıklı kişilerin orofarinksinde nadiren bulunurken, hastanede yatan hastalarda ise prevalans oranı %20'lere kadar çıkabilmektedir. Alkol bağımlısı, diyabetli ve kronik obstruktif akciğer hastalığı olan bireylerde akciğer enfeksiyonları sık görülmektedir. Bu hastalardaki bakteri kolonizasyonu enfeksiyon kaynağı olarak bilinmektedir (Özakın, 2008). *K. pneumoniae*’nin klinik önemine rağmen, patogenezi ile ilgili bilgiler tam olarak aydınlatılmamış ve önemli boşluklar doldurulmamıştır. Bu nedenle oluşturduğu enfeksiyonları tedavi etmek için yeni stratejiler tasarlamak amacıyla enfeksiyon biyolojisini daha iyi anlamamızda zorluk oluşmaktadır (Bengoechea and Pessoa, 2019).

Klebsiella türlerinin insidansının son zamanlarda artışı hem debilize hastalardaki nozokomiyal enfeksiyonların artışı hem de antibiyotiklere direnç geliştiren immünsüprese hastalarının artışından kaynaklanmaktadır. *Klebsiella*’larda antibiyotiklere direnç eğilimi plasmidlerin aracılığı ile oluşmaktadır (Özakın, 2008).

2.3.6. *K. pneumoniae* Enfeksiyonlar

K. pneumoniae klinikte en sık izole edilen *Klebsiella* türüdür. İnsanlarda ve hayvanlarda çeşitli hastalıklardan sorumludur (Briss, 2009). Genellikle immünsupresif ve yatan hastaları etkileyen fırsatçı patojenidir. *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlar başlıca üriner sistem, pnömoni, yumuşak doku, bakteremi ve menenjitte gibi nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır (Günaydın, 2004; Kuş, et al., 2017). Yara enfeksiyonlarına neden olma potansiyeline sahiptir ve sıklıkla kan, idrar ve solunum yolu örneklerinden izole edilebilmektedir (Günaydın, 2004; El Fertas-Aissani et al., 2013). Asya ülkelerinde son zamanlarda ortaya çıkan karaciğer apsesi sendromu da yaygın olduğu bildirilmiştir (El Fertas-Aissani et al., 2013).

K. pneumoniae bütün bakteriyel pnömonilerin %2' sinden sorumlu olarak bilinmektedir. Pnömoni (Freidlander pnömoni) oluşturduğu en önemli hastalık olup akciğer fonksiyonları bozuk kişilerde toplumsal olarak yaygındır (Tünger et al., 2005).

Gram pozitif organizmalar göre 4-5 kat daha az sıklıkla sepsise neden olan *K. pneumoniae* ve *E. cloacae*'nin mortalite oranı iki kat daha fazladır (Kaleli, 2009).

2.4. Kan Kültürü

Kan kültürü işlemi bakterilerin neden olduğu sistemik enfeksiyonları belirlemede önemlidir. Ateşli ve lokalize bulgusu olan veya olmayan hastalar için kan kültürü önemli bilgiler sağlamaktadır. Ciddi hastalığı görülmeyen veya akut infektif endokarditli hastalarda esas tanı yöntemidir (Yenen, 2015).

Farklı mikroorganizma türleri kan kültürlerinde üreyebilmektedir. Gram negatif *E. coli* ve *K. pneumoniae* gibi enterik türler kan kültüründe ürerler ve izole edilirler (Yenen, 2015). Kanda bulunan mikroorganizmaları en iyi şekilde izole edebilmek için, yeterli miktarda kanın kültüre edilmesi gerekmektedir. Araştırmalar, alınan kan miktarının yetersiz olması yanlış negatif sonuç riskini artırdığını göstermiştir (Clinical Excellence Commission, 2021). Çeşitli faktörler kan kültürünün pozitif sonuçlanmasını etkilemektedir. Bu faktörler, besiyerinde ekilen kanın dilüsyonu, alınan kanın miktarı, aerop ve anaerop besiyerlerin kullanılması, inkübasyon süresi şeklinde sıralana bilmektedir. Kan türlerinin inkübasyon süresi 5 ila 7 gündür. Otomatik sistemin pozitif sonuç verdiği kültürler sonrasında katı besiyerine pasaj yapılmaktadır (Yenen, 2015).

2.5. Antimikrobiyal Ajanlar

2.5.1. Meropenem

Karbapenemler içerisinde bulunan meropenem, klinikte önemi olan hemen hemen tüm aeroblara ve anaeroblara karşı in vitro bakterisidal aktiviteye sahip parenteral bir antibiyotiktir (Edwards, 1995). Karbapenem çekirdeğine sahip β - laktam antibiyotik olan karbapenemler 1970'lerin ortalarında keşfedildi ve 1986'dan beri klinik kullanımında mevcuttur (Fish ve Singletary, 1997).

Meropenem, yarı sentetik parenteral bir antibiyotik olup, bakteri hücre duvarlarının biyosentezinde bulunan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) kovalent olarak bağlanarak bakteri hücrenin ölümüne neden olurlar. PBP'ler, bakteriyel hücre bölünmesinde, hücre duvarının sentezinde ve bu duvarın yapısının korunmasında görev yapan proteinlerdir. Bu nedenle meropenem bakteri hücre duvarının bütünlüğünü bozar, hücrenin büyümesini ve bölünmesini engelleyerek bakterisidal etkilere neden olmaktadır (Fish ve Singletary, 1997).

Klinik de izole edilen patojenler için Minimum İnhibitör Konsantrasyonunu (MİK) aşan meropenem'in insan plazma, doku veya idrar konsantrasyonları ile birleştiğinde, birçok vücut bölgesindeki enfeksiyonların tedavisinde etkili olacağı düşünülmüştür (Edwards, 1995).

2.5.2. Gentamisin

İlk olarak 1963'te keşfedilen gentamisin, *Micromonospora purpurea* fermantasyonu ile türetilmiş olup, diğer antimikrobiyallere direnç gösteren bakterilerin tedavisinde yarar sağlayan antibiyotiktir. Gram negatif ve bazı gram pozitif mikroorganizmalara karşı bakterisidal etki etmektedir (Appel and Neu, 1978; Hayward et al., 2018).

Gentamisin suda çözünbilen, geniş pH aralığında stabil olan ve kısmen ısıya dayanıklı antibiyotiklerdir. Bu antibiyotikler bakterilerin 30 S ribozomundaki spesifik reseptör bölgelerine bağlanır ve anormal polipeptit sentezine neden olarak protein sentezini engeller. Aminoglikozit bileşiklerinin bakteri hücresine girmesine ve ribozomuna bağlanmasına yetecek kadar hücreye temas etmesi gerekmektedir (Appel and Neu, 1978).

2.6. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (ADT)

Bu testlerin amacı, yaygın patojenlerin geliştirdiği olası ilaç direncini tespit etmek ve enfeksiyonlar için tercih edilen ilaçların duyarlılığını belirlemektir (Jorgensen and Ferraro, 2009). Duyarlılık testleri etkili antibiyotiği belirlemede yardımcı olmaktadır (Heller & Spence, 2019).

Antibiyotik duyarlılık testinin yapıldığı durumlara, antibiyotiklere sıklıkla dirençli olan mikroorganizmanın elde edildilmesi, özgül tedavi gerektiren öldürücü olma olasılığı olan enfeksiyon durumları ve hızlı bakterisidal antibiyotiğin kullanımının gerektirdiği enfeksiyonlara neden olan patojenlerin varlığı, örnek olarak verilebilir (Yenen, 2015).

Yaygın olarak kullanılan ADT yöntemleri, sıvı mikrodilüsyon veya hızlı otomatik cihaz yöntemleridir. Esnek ve maddi tasarrufu sağlayan manuel yöntemler ise disk difüzyon ve gradyan difüzyon yöntemlerini içerir. MİK gibi kantitatif sonuç verebilen yöntemler ve diğerleri; duyarlı, orta duyarlı veya dirençli kategorilerini kullanarak kalitatif değerlendirmeye olanak sağlarlar (Jorgensen and Ferraro, 2009).

2.6.1. Fenotipik Yöntemler

Fenotipik testler, standart koşullar altında mikroorganizmalar ile antibiyotiği bir araya getirerek, test edilen antibiyotik tarafından izolatın inhibe edilip edilmeyeceğini ölçmektedir. İşlem sonunda MİK değerleri veya inhibisyon zon çapları elde edilmektedir. ıkan bu sonuçlar eşik değer ile karşılaştırılarak tedavinin başarısı tahmin edilmeye çalışılmaktadır (Gülmez, 2014; Spencer et al., 2020). Fenotipik yöntemler içerisinde broth mikrodilüsyon yöntemi, disk difüzyon yöntemi ve gradient difüzyon yöntemi en yaygın kullanılan üç yöntemdir (Heller ve Spence, 2019).

Testte kullanılacak besiyerleri, inkübasyon koşulları, kalite kontrol izolatları, antibiyotikler ve çalışılacak izolatlar CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) veya EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) standartlarında belirlenir (Aydemir et al., 2016). Fenotipik yöntemler dünya çapındaki mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından referans standardı olarak kullanılmaya devam etmektedir (Spencer et al., 2020).

2.6.1.1. Disk Difüzyon Testi

Disk difüzyon testi, A.W. Bauer, W.M. Kirby ve arkadaşlarının çalışması ile standardize edildiğinden bu yana uygulama kolaylığı ve diğer yöntemlere göre daha düşük maliyetli olduğu için mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından sık kullanılmaktadır (Karatuna et al., 2017).

Dilüsyon yöntemlerinden farklı olarak MİK değeri elde edilemez, ancak ilacın inhibisyon zonunun çapı ile duyarlılık kategori uyumu tahmin edilebilir (Karatuna vd., 2017). Bu yöntemde bakteri izolatının farklı antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak kategorize edilir. Disk difüzyon yöntemleri ticari olarak hazırlanmış, belirli bir antimikrobiyal madde konsantrasyonu ile doymuş disk şeklinde ki filtre kağıtlarının, test edilecek mikroorganizma ile ekim yapılmış besiyeri yüzeyine uygulanması ile yapılır. Diskteki antimikrobiyal, besiyerin içine doğru dağılıp yayılır. Antibiyotiğin difüzyonu, besiyeri üzerine yerleştirildikten kısa bir süre sonra başlamaktadır. Antimikrobiyal maddenin konsantrasyonu logaritmik olarak diskten uzaklaştıkça azalmaktadır. Konsantrasyonunun mikroorganizmayı inhibe ettiği alanlarda, her bir diskin etrafında bir inhibisyon zonu oluşur ve bu bölgede herhangi bir büyüme meydana gelmez (Jorgensen and Turnidge, 2015).

2.6.1.2. Gradient Difüzyon Testi

Gradient difüzyon testi disk difüzyon testinin bazı özelliklerini taşımaktadır. Bu yöntemde agar yüzeyine antimikrobiyal madde ile doyurulmuş, ince plastik test şeritler yerleştirilir. Şerit boyunca antibiyotiğin konsantrasyonları düzenli olarak azalmakta ve MİK değeri elde edilmektedir (Karatuna et al., 2017). Gradient difüzyon testinde elips şeklinde büyümeyi engelleyen alanının alt kısmının şeritle temas ettiği yerden konsantrasyonu değerlendirilerek MİK belirlenir (Jorgensen and Ferraro, 2009).

2.6.1.3. Agar Dilüsyon Testi

Agar dilüsyon testi, antimikrobisallerin sadece seçilmiş konsantrasyonları test edilmek suretiyle, büyük laboratuvarlarda rutin olarak başarıyla kullanılmaktadır. İlaç endüstrisinde yeni ilaç araştırması gibi çok sayıda izolatların dahil edildiği bir veya birden fazla ilaç etkinliğini aynı anda test edildiği bir işlemdir. Aynı zamanda inokulum kontaminasyonlarının ve heterojen direnç fenotiplerinin kolayca saptanabilmesinde de uygun yöntemdir (Karatuna et al., 2017; Kayacan, 2009).

Her bir standart bakteri süspansiyonu antimikrobiyallerin terapötik aralıktaki farklı bir konsantrasyonunu içeren agar plaklarına ekilir (Karatuna et al., 2017; Kayacan, 2009). Agar dilüsyon testinin en önemli dezavantajı ise, plakların hazırlanması aşamasının zaman alıcı ve yoğun emek harcanan bir yöntem olmasıdır. Özellikle birden fazla antimikrobiyal ilacın az sayıda bakteriye karşı test edilen deneylerde pratik bir yöntem olmaması bir diğer dezavantajıdır (Karatuna et al., 2017; Kayacan, 2009).

2.6.1.4. Makrodilüsyon Testi

İlk duyarlılık testleri arasında bulunan makrodilüsyon duyarlılık testi Fleming tarafından geliştirilmiştir. Prosedür olarak öncelikle sıvı besiyerine antimikrobiyallerin seri sulandırmaları yapılır (Karatuna et al., 2017). Antimikrobiyallerin dilüsyonu test tüplerine dağıtılan sıvı büyüme ortamına iki kat yoğunlukta hazırlanıp dağıtılması işlemidir (Jorgensen and Ferraro, 2009). Ardından, üzerlerine standart hazırlanan bakteri süspansiyonu eklenmektedir (Karatuna vd., 2017). Fakat sıvı besiyeri makrodilüsyon testi klinik patojenlerine karşı eş zamanlı olarak test edilmesi gerekli olan antibiyotiklerin sayısındaki büyük artış sebebiyle, klinik laboratuvarlarda artık uygulanmamaktadır (Karatuna et al., 2017).

2.6.1.5. Mikrodilüsyon Testi

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi, mikrodilüsyon plaklarında yapılan sıvı dilüsyon testlerinden biridir (Aydemir et al., 2016) Standart plak 96 kuyucuk içerir. Tek bir plakta iki katlı farklı dilüsyon aralığının test edilmesine olanak sağlamaktadır (Jorgensen and Ferraro 2009). Son zamanlarda sıvı mikrodilüsyon yöntemi yeni duyarlılık yöntemler için uluslararası referans durumundadır. Araştırma amaçlı veya farklı işlemler için istenirse laboratuvar ortamında manuel olarak hazırlanabileceği gibi, aynı zamanda farklı antibiyotik panellerini içeren tek kullanımlık dondurulmuş plakları liyofilize halde hazır olarakta satın alınabilir (Kayacan, 2009).

Sıvı mikrodilüsyon plaklarının dilüsyon şemasının hazırlanmasında tıpkı agar ve sıvı makrodilüsyon yöntemleri için tanımlanan basamaklar ile aynıdır. Antibiyotik çözelti dağıtma işlemi tamamlandıktan sonra kontaminasyon riskini azaltmak ve buharlaşmayı önlemek amacıyla mikrodilüsyon plaklarını bekletmeden -20 veya -60°C ya da daha düşük sıcaklıkta olan derin dondurucuya kaldırılmalıdır. İşlem yapılacağı zaman plaklar oda sıcaklığında çözündürülmelidir ve inokulum hazırlandıktan

sonra en kısa zamanda mikrodilüsyon plaklarına dağıtılarak inokülasyon işlemi tamamlanmalıdır. İnkübasyon sonrasında öncelikle üreme kontrolü ve kontaminasyon kontrolü kuyucukların değerlendirmesi yapılır. Daha sonra duyarlılık testleri yapılan bakterilerin MİK değerleri okunur ve kaydedilir (Kayacan, 2009).

2.6.2. Otomatize Sistemler

Antibiyotik duyarlılık testi için ticari otomatize sistemler 1990'dan bu yana yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sistemler, geleneksel fenotipik testlere göre işlemin daha hızlı tamamlanması sonucu örnek-cevap süresini kısaltma imkan sağlamaktadır. Aynı zamanda basitlik, taşınabilirlik ve tek hücreli analiz kapasitesi nedeniyle daha az işgücü ile çok sayıda sonuç üretmeye olanak sağlamaktadır. Otomatize sistemlerin sonuçları yüksek oranda tekrarlanabilirliğe sahiptir (Karatuna et al., 2017; Li, et al., 2017).

Çok sayıda ticari otomatik sistemler günümüzde klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Li, et al., 2017). Fakat bu sistemlerin, dezavantajı sıra dışı fenotipler ve tayini güç direnç tipleri gibi karşılaşılan mikroorganizmaların tüm patojen tiplerini test edebilme yeteneğinden yoksun olmasıdır (Karatuna et al., 2017).

2.6.3. Moleküler Yöntemler

Farklı antimikrobiyal ajanlara karşı mikroorganizmaların duyarlılığının azalmasına yol açan mekanizmaların genotipik tespitinde oluşan çeşitli zorluklara rağmen, moleküler yöntemler hem araştırma hem de referans laboratuvarları tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır (Anjum et al., 2018). Günümüzde klinikte önemi olan bakterilerin antimikrobiyal direncinin hızlı tanısında nükleik asit ve protein bazlı yöntemler kullanılmaktadır (Hasdemir, 2014). PCR-bazlı Nükleik Asit Testleri (NAT) ve hibridizasyon teknikleri gibi yöntemlerden bazıları dünya çapında rutin olarak yıllardır kullanılırken, tam genom dizileme gibi yeni yöntemler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. PCR bazlı yöntemler diğer moleküler yöntemlerle karşılaştırıldığında maliyet ve verim açısından daha ilerdedir (Anjum et al., 2018). Nükleik asit bazlı teknolojiler antimikrobiyal direncin saptanmasında çoğu avantaja sahip olmalarına rağmen özellikle gram negatif bakterilerde direnç determinantlarının fazlalığından dolayı fenotipik direnç sonuçları ile her zaman uyum göstermemektedir (Hasdemir, 2014).

2.7. Hızlı Antibiyotik Duyarlılık Yöntemler

Standart fenotipik antimikrobiyal duyarlılık yöntemlerinin sonuçları çok zaman almalarından dolayı daha kısa süre içerisinde sonuç verebilen yeni yöntemlerin arayışları devam etmektedir (Gülmez, 2014). Aynı zamanda dirençli bakterilerin tanımlanmasında ve bakterilerin geliştirdiği antibiyotik direncine karşı mücadelede hızlı testlerin geliştirilmesi ve kullanılması öncelik olarak belirlenmiştir (Li et al., 2017). Antimikrobiyal direncin yayılmasının azaltılmasına yardımcı olabilmek için, antibiyotiklerin etkinliğini belirlemede minimum karmaşıklıkla hızlı bir şekilde değerlendire bilen ve hangi antibiyotiğin reçete edileceğini belirleye bilen yeni yöntemlere ihtiyaç vardır (Hannah et al., 2019). Bununla birlikte antimikrobiyal dirençli bakteriyemi vakalarının artmasıyla beraber, hızlı fenotipik duyarlılık testlerine olan ilgide artırmaktadır (Tibbetts et al., 2022).

2.7.1. Alamar Mavisi (Resazurin) Testi

Alamar mavisi testi, ilk kez sütte bakteriyel veya maya kontaminasyonunu olup olmadığını değerlendirmek amacıyla 1950'lerde Erb ve Ehlers tarafından kullanılan bir yöntemdir (Tokur ve Aksoy, 2017). Aktif bileşen diazo-resorsinol, resazoin, azoresorsin ve resazurin olarak da bilinmektedir (Rampersad, 2012). Resazurin, flüoresan olmayan koyu mavi renkli bileşiğin canlı olan hücreler tarafından resorufin bileşiğine indirgemesi ile flüoresans özellikteki pembe renge dönüşen bir boyadır. Yani suda kolaylıkla çözünen, kültür ortamında stabil olan, toksik olmayan, hücre zarlarından serbestçe geçerek hücre içerisinde indirgenmesi sonucu pembe renge dönüşerek kültürdeki hücrelerin sürekli olarak izlenmesine izin vermektedir (Rampersad, 2012; Tokur ve Aksoy, 2017)

Fakat ölü olan hücreler metabolik aktiviteleri olmadığı için resazurini indirgeyemezler ve bunun sonucunda da pembe renkli floresans sinyalini oluşturamazlar. Sadece canlı olan hücreler resazurini resorufin bileşiğine dönüştürebilirler. Bu nedenle canlı hücre sayısı arttıkça sinyal şiddetinin de arttığı gözlemlenmektedir. (Tokur ve Aksoy, 2017).

Farklı pH değişikliğine karşı dayanıklı olduğu gösterilen resazurin testinin lizis, ekstraksiyon ve yıkama gibi uzun zaman ve emek gerektiren prosedürleri yoktur. Alamar mavisi testi direk olarak bir vasatta canlı olan hücreyi toksik bir maddeye maruziyeti sonunda uygun bir inkübasyon periyoduna bırakılır ve süre sonunda ölçüm

yapılarak test tamamlanır. Metabolik aktivitesi düşük olan hücre ile çalışılıyorsa yeterli yanıt sağlanabilmesi için inkübasyon süresinin uzatılması gerekmektedir (Tokur ve Aksoy, 2017).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen Bakteriler

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 27.04.2023 tarihinde verilen OMÜ KAEK 2023/126 karar nolu izni ile yürütülmüştür (Ek-1).

Çalışmamıza; Haziran 2021 - Ağustos 2022 tarihleri arasında, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Bakteriyoloji Laboratuvarı'na çeşitli servislerden rutin gönderilen kan örneklerden izole edilen 139 *Klebsiella pneumoniae* izolatu dahil edildi. Ayrıca *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu çalışmaya katıldı.

3.2. Metot

3.2.1. İzolatların Tanımlanması

Bakteriyoloji laboratuvarına rutin gönderilen ve üreme tespit edilen kan kültürleri koyun kanlı agara (bioMérieux) ve Eosin Methylene Blue agara (bioMérieux) ekimi yapıldı ve inkübasyon sonunda saf olduğundan emin olunan kültürlerde üreyen mikroorganizmalar Vitek-MS (bioMerieux, Fransa) sistemi kullanılarak tanımlandı. Bu işlem sonunda *K. pneumoniae* olarak tanımlanan izolatlar saklama besiyerine alınarak çalışılncaya kadar -80°C'de saklandı.

3.2.2. Besiyerinin Hazırlanması

Mikrodilüsyon ve resazurin mikropalak yönteminde besiyeri olarak Mueller-Hinton Broth (MHB) (Himedia; Mumbai, India) kullanıldı. Besiyerleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanarak 15 dakika otoklavda 121°C'de 1 atm basınç ile steril edildi. Yeterince soğuyan besiyerlerinin katyon ayarı yapılarak kullanılacağı zamana kadar 4°C'de muhafaza edildi.

3.2.3. Resazurin Stoklarının Hazırlanması

Rezasurin (Sigma) steril distile su ile çözülerek %0,02'lik rezasurin solüsyonu elde edildi. Hazırlanan bu solüsyon 0,22 µm'lik filtre membranından geçirilerek steril edildi ve kullanılncaya kadar + 4°C'de muhafaza edildi.

3.2.4. Antibiyotik Stokunun Hazırlanması

Çalışmada kullanılan antibiyotik stokları; gentamisin (Sigma-Aldrich) 8192

$\mu\text{g/ml}$, meropenem (Sigma-Aldrich) 4096 $\mu\text{g/ml}$ olacak şekilde steril su ile çözülerek hazırlandı. Tamamen çözündüğünden emin olunan antibiyotik solüsyonları 0,22 μm 'lik filtreden geçirildi steril mikrosantrofüj tüplerine dağıtılarak çalışılncaya kadar -20°C 'de saklandı. Çalışmaya başlamadan önce antibiyotikler oda sıcaklığında eritilerek kullanıldı.

3.2.5. Plakların Hazırlanması

Mikrodilüsyon yöntemini uygulayabilmek için steril 96 kuyucuklu U tabanlı plaklar kullanıldı. Gentamisin ve meropenem MİK değerlerinin tespit edilebilmesi için mikrodilüsyon plakları şu şekilde hazırlandı: Tüm kuyucuklara 100 μl KAMHB (HiMedia, Hindistan) eklendi. Daha önce hazırlanmış olan stok gentamisin ve meropenem ayrı ayrı plakların 1-10. satırlarına 64-0.125 $\mu\text{g/ml}$ final konsantrasyonları olacak şekilde dağıtıldı. 11. kuyucuk üreme kontrol, 12. kuyucuklar ise negatif kontrol olarak kullanıldı. Tüm plaklar çalışılncaya kadar -20°C de saklandı (Aktaş, 2013).

3.2.6. İnokülasyon İşleminin Yapılması

Önceden hazırlanan mikropalaklar kullanılmadan önce oda sıcaklığında çözününceye kadar bekletildi. Taze olarak üretilen bakteri kolonisi serum fizyoloji içerisinde 0,5 McFarland bulanıklığı olacak şekilde süspanse edildi. Bu süspansiyon KAMHB kullanarak 1:10 oranında dilüe edildi. Elde edilen bu son karışımdan negatif kontrol kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara 5 μl olacak şekilde inokülasyon işlemi yapıldı. Hazırlanan plaklar 36°C 'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu, MİK değeri olarak kaydedildi (Dündar, 2013).

Elde edilen sonuçlar The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) MİK değerleri ile karşılaştırılarak yorumlandı (Tablo 3.1) (EUCAST, 2021).

3.2.7. Resazurin Mikroplak Yöntemi

Resazurin mikroplak ve mikrodilüsyon yöntemi için plaklar aynı şekilde hazırlandı. Mikrodilüsyon ve resazurin mikroplak yönteminde aynı inokülüm içerikleri kullanıldı ve aynı ortamda inkübasyona kaldırıldı. Bunu yanında resazurin mikropalakları inkübasyon işleminin beşinci saatinde %0.02'lik 15 μl resazurin damlatıldı ve tekrar inkübe edildi. İnokülasyonlarının altıncı ve yedinci saatlerinde test

sonuçları değerlendirildi. Mavi renkten pembe renge dönmeyen (üreme olmayan) son kuyucuk MİK değeri olarak belirlendi ve not edildi.

3.2.8. İstatistiksel Yöntem

Sonuçlar ADT (Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri) için ABD FDA kriterlerine göre değerlendirildi. Buna göre temel uyum (TU), kategorik uyum (KU), çok büyük uyumsuzluk (ÇBU), büyük uyumsuzluk (BU), küçük uyumsuzluk (KÜU) oranları aşağıda verilen formüller ve tanımlamalar kullanılarak hesapladı (US FDA. Class II Special Controls Guidance Document, 2003).

TU: Yeni yöntemin MİK'lerinin referans yöntemle ± 1 dilüsyon içindeki uyumu.

$$TU = \frac{\text{MİK'in } \pm 1 \text{ dilüsyon içinde uyumlu olanlar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \times 100$$

KU: Yeni yöntem ve referans yöntem arasında duyarlı, orta duyarlı, dirençli kategorik sonuçları arasında uyum olması.

$$KU = \frac{\text{Referans yöntemle kategorik uyumlu olanlar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \times 100$$

ÇBU: Referans yöntemle kategorik olarak dirençli iken yeni yöntemle duyarlı bulunması.

$$\text{ÇBU} = \frac{\text{Kategorik uyuma bağlı çok büyük uyumsuzluklar}}{\text{Referans yöntemle dirençli bulunan organizma sayısı}} \times 100$$

BU: Referans yöntemle kategorik sonuç duyarlı, yeni yöntemle dirençli sonuç vermesi.

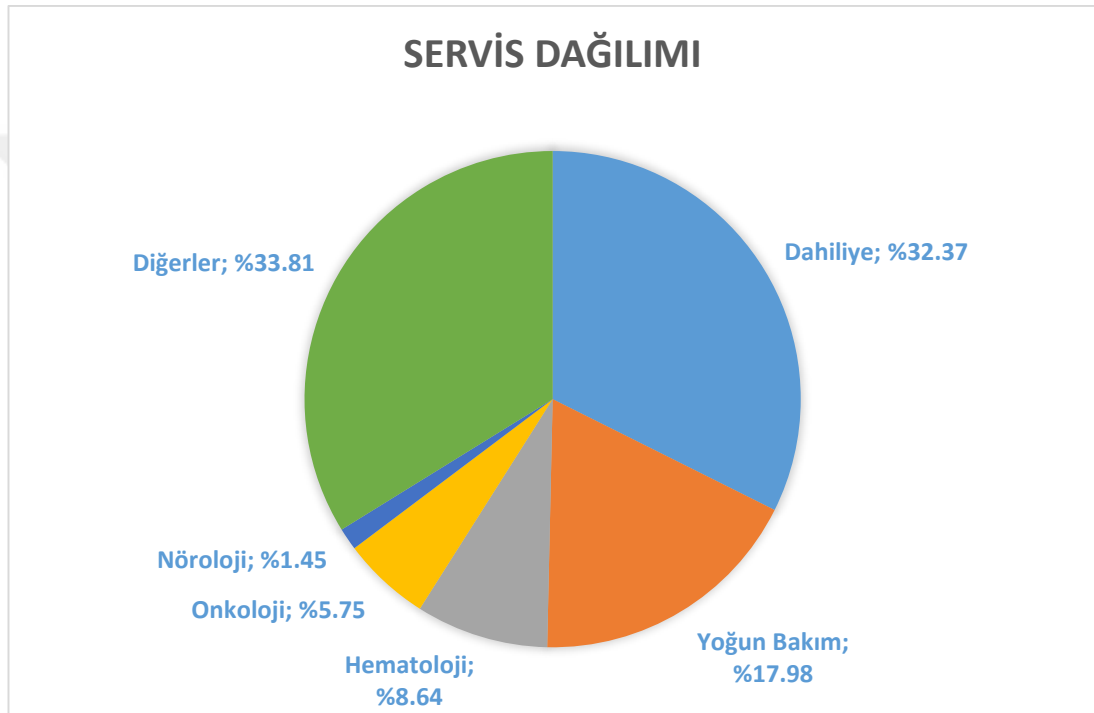
$$BU = \frac{\text{Kategorik uyuma bağlı büyük uyumsuzluklar}}{\text{Referans yöntemle duyarlı bulunan organizma sayısı}} \times 100$$

KÜU: Referans yöntemle kategorik olarak dirençli veya duyarlı, yeni yöntemle orta duyarlı ya da tam tersi sonuç vermesi.

$$KÜU = \frac{\text{Kategorik uyuma bağlı küçük uyumsuzluklar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \times 100$$

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamıza dahil edilen 139 *K. pneumoniae* 'nin izole edildiği kan örneklerinin gönderildiği servislerin dağılımı; dahiliye %32.37 (n=45), yoğun bakım %17.98 (n=25), hematoloji %8.64 (n=12), onkoloji %5.75 (n=8), nöroloji %1.45 (n=2), diğerler %33.81 (n=47) (Diğerler: Genel Cerrahi, Gastroenteroloji, Enfeksiyon Hastalıkları, Nefroloji, Kardiyoloji, Acil ve İlk Yardım, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Üroloji, Kalp Damar Cerrahi, Göğüs Cerrahi, Beyin Cerrahi) şeklinde sıralanır. Gönderilen servislerin dağılımı Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. İzolatların servislere göre dağılım grafiği

4.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntem ve Resazurin Mikroplak Yöntem Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.1.1. Gentamisin Sonuçları

Çalışmamıza dahil edilen tüm izolatların gentamisin mikroplak, resazurin mikroplak altıncı ve yedinci saat MİK sonuçları karşılaştırmalı olarak Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. İzolatların gentamisin mikrolak, resazurin mikrolak 6. ve 7. saat MİK sonuçları

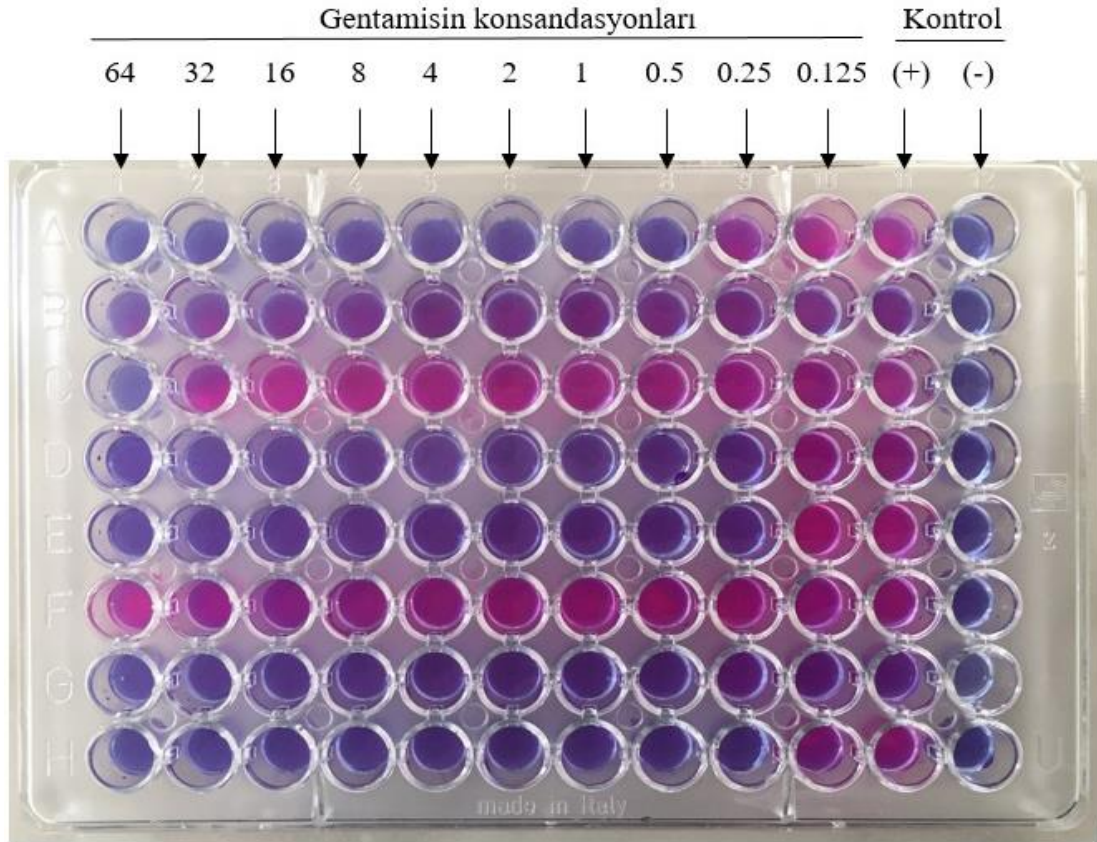
İzolatlar	Resazurin 6. saat	Resazurin 7. saat	Standart MİK
1	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
2	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
3	>64 / R	>64 / R	>64 / R
4	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
5	>64 / R	>64 / R	>64 / R
6	>64 / R	>64 / R	>64 / R
7	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
8	>64 / R	>64 / R	>64 / R
9	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
10	≤0.125 / S	≤0.125 / S	0.25 / S
11	>64 / R	>64 / R	>64 / R
12	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
13	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
14	>64 / R	>64 / R	>64 / R
15	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
16	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
17	>64 / R	>64 / R	>64 / R
18	>64 / R	>64 / R	>64 / R
19	16 / R	32 / R	64 / R
20	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
21	0.5 / S	0.5 / S	1 / S
22	64 / R	64 / R	>64 / R
23	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
24	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
25	32 / R	64 / R	>64 / R
26	1 / S	1 / S	1 / S
27	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
28	64 / R	64 / R	>64 / R
29	64 / R	64 / R	>64 / R
30	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
31	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
32	64 / R	64 / R	>64 / R
33	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
34	0.5 / S	0.5 / S	>64 / R
35	0.5 / S	0.5 / S	1 / S
36	>64 / R	>64 / R	>64 / R
37	>64 / R	>64 / R	>64 / R
38	64 / R	64 / R	>64 / R
39	>64 / R	>64 / R	>64 / R
40	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
41	4 / R	4 / R	16 / R
42	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
43	>64 / R	>64 / R	>64 / R
44	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
45	>64 / R	>64 / R	>64 / R
46	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
47	32 / R	32 / R	>64 / R
48	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
49	≤0.125 / S	≤0.125 / S	0.25 / S
50	>64 / R	>64 / R	>64 / R
51	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
52	>64 / R	>64 / R	>64 / R
53	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
54	0.5 / S	0.5 / S	0.25 / S
55	>64 / R	>64 / R	>64 / R
56	>64 / R	>64 / R	>64 / R
57	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S

58	64 / R	64 / R	>64 / R
59	>64 / R	>64 / R	>64 / R
60	0.5 / S	0.5 / S	1 / S
61	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
62	>64 / R	>64 / R	>64 / R
63	2 / S	2 / S	2 / S
64	32 / R	64 / R	>64 / R
65	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
66	0.25 / S	0.25 / S	1 / S
67	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
68	64 / R	64 / R	>64 / R
69	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
70	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
71	32 / R	32 / R	>64 / R
72	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
73	>64 / R	>64 / R	>64 / R
74	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
75	1 / S	1 / S	1 / S
76	>64 / R	>64 / R	>64 / R
77	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
78	0.5 / S	0.5 / S	1 / S
79	32 / R	32 / R	64 / R
80	64 / R	64 / R	>64 / R
81	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
82	0.5 / S	0.5 / S	1 / S
83	16 / R	32 / R	64 / R
84	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
85	>64 / R	>64 / R	>64 / R
86	64 / R	64 / R	>64 / R
87	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
88	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
89	>64 / R	>64 / R	>64 / R
90	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
91	64 / R	64 / R	>64 / R
92	$\leq 0.125 / S$	0.25 / S	0.25 / S
93	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
94	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
95	>64 / R	>64 / R	>64 / R
96	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
97	>64 / R	>64 / R	>64 / R
98	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
99	>64 / R	>64 / R	>64 / R
100	0.25 / S	0.5 / S	0.5 / S
101	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
102	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
103	0.5 / S	0.5 / S	1 / S
104	8 / R	64 / R	>64 / R
105	>64 / R	>64 / R	>64 / R
106	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
107	>64 / R	>64 / R	>64 / R
108	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
109	>64 / R	>64 / R	>64 / R
110	1 / S	1 / S	1 / S
111	>64 / R	>64 / R	>64 / R
112	>64 / R	>64 / R	>64 / R
113	1 / S	1 / S	1 / S
114	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
115	64 / R	64 / R	>64 / R
116	>64 / R	>64 / R	>64 / R
117	0.5 / S	0.5 / S	1 / S

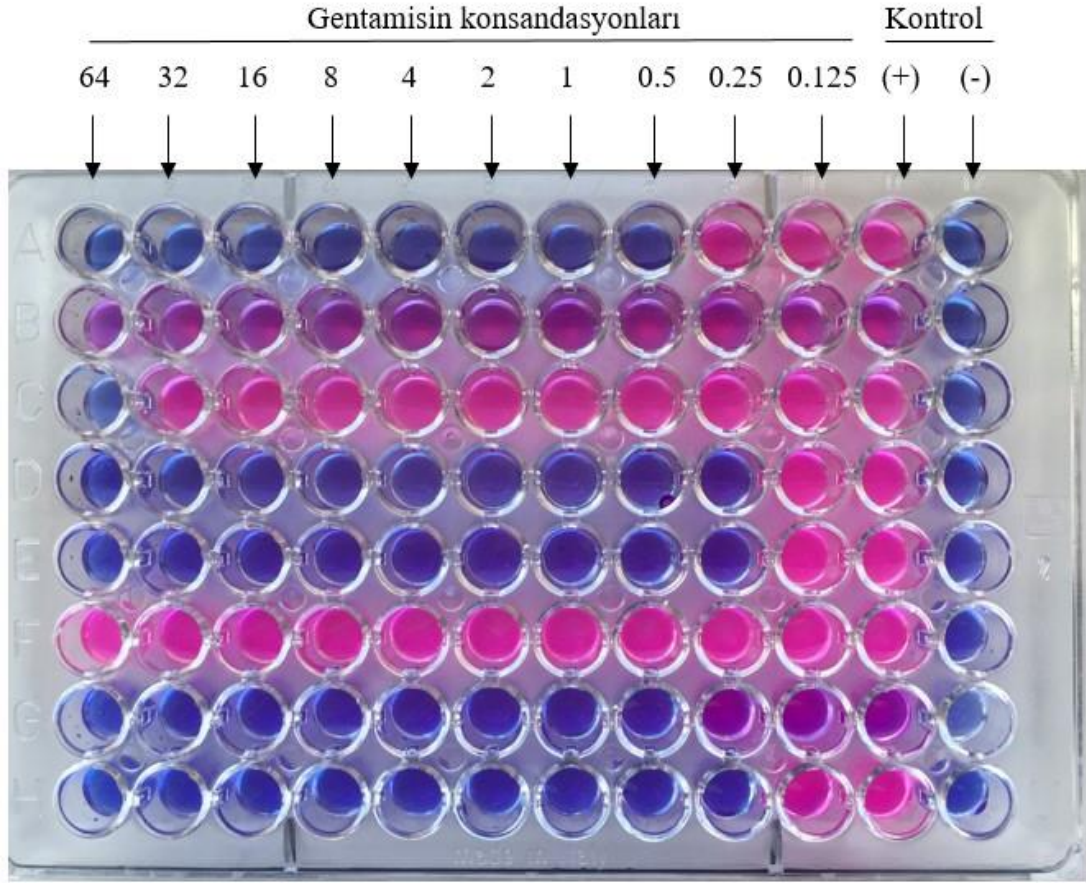
118	>64 / R	>64 / R	>64 / R
119	64 / R	64 / R	>64 / R
120	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
121	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
122	>64 / R	>64 / R	>64 / R
123	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
124	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
125	32 / R	>64 / R	>64 / R
126	>64 / R	>64 / R	>64 / R
127	64 / R	64 / R	>64 / R
128	>64 / R	>64 / R	>64 / R
129	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
130	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
131	>64 / R	>64 / R	>64 / R
132	64 / R	64 / R	>64 / R
133	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
134	>64 / R	>64 / R	>64 / R
135	≤ 0.125 / S	≤ 0.125 / S	0.25 / S
136	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
137	>64 / R	>64 / R	>64 / R
138	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
139	>64 / R	>64 / R	>64 / R

S: Duyarlı, R: Dirençli

Gentamisin duyarlılığının erken tespitinde resazurin mikropalak yöntemi ile çalışılan örnek plağın altıncı ve yedinci saat görüntüleri Şekil 4.2 ve 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Gentamisin resazurin testi 6. saat plağı



Şekil 4.3. Gentamisin resazurin testi 7. saat plağı

4.1.2. Meropenem Sonuçları

Çalışmamıza dahil edilen tüm izolatların meropenem mikropak, resazurin mikropak altıncı ve yedinci saat MİK sonuçları karşılaştırmalı olarak Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. İzolatların meropenem mikropak, resazurin mikropak 6. ve 7. saat MİK sonuçları

İzolatlar	Resazurin 6. saat	Resazurin 7. saat	Standart MİK
1	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
2	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
3	32 / R	32 / R	32 / R
4	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
5	64 / R	64 / R	64 / R
6	16 / R	16 / R	32 / R
7	≤0.125 / S	≤0.125 / S	0.25 / S
8	16 / R	16 / R	32 / R
9	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
10	<0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
11	16 / R	16 / R	32 / R
12	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
13	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
14	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
15	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
16	>64 / R	>64 / R	>64 / R

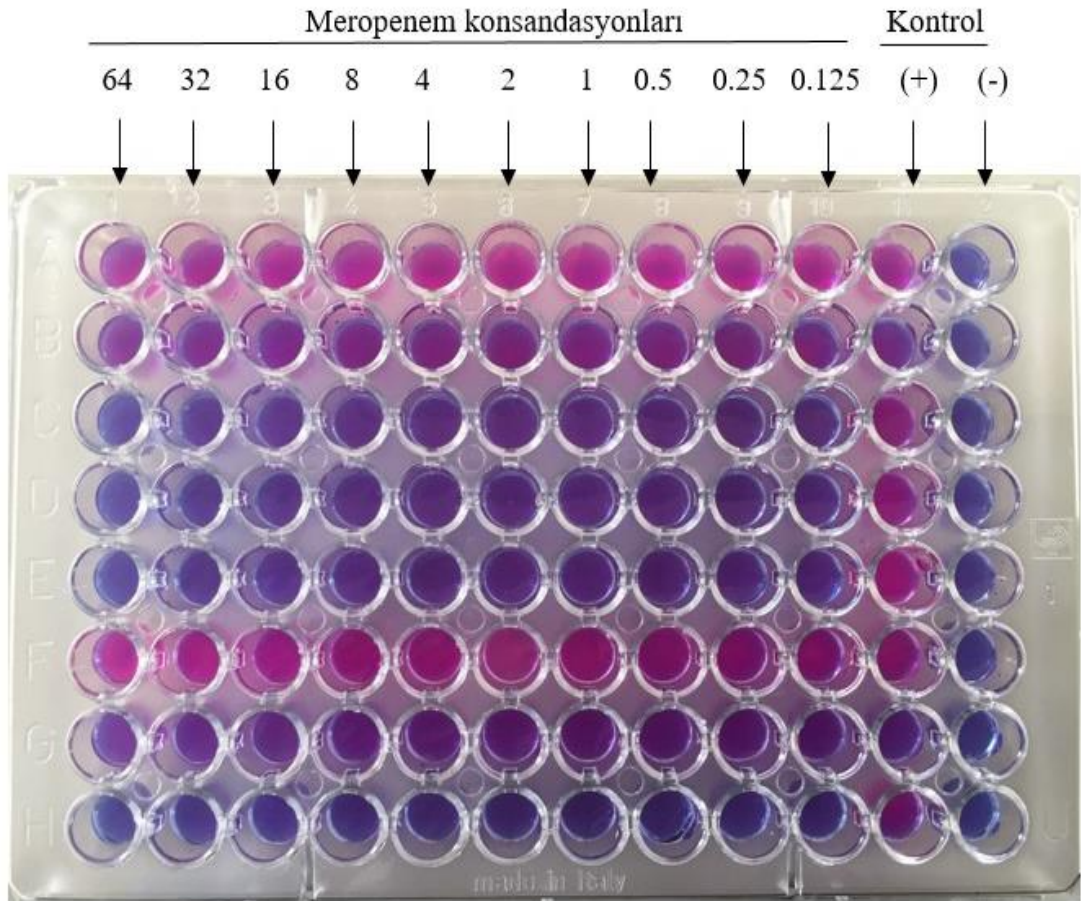
17	16 / R	16 / R	32 / R
18	32 / R	32 / R	>64 / R
19	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
20	4 / I	4 / I	16 / R
21	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
22	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
23	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
24	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
25	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
26	16 / R	16 / R	>64 / R
27	0.25 / S	0.5 / S	4 / I
28	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	0.25 / S
29	32 / R	32 / R	32 / R
30	64 / R	64 / R	>64 / R
31	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
32	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
33	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
34	16 / R	16 / R	16 / R
35	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S
36	16 / R	16 / R	16 / R
37	16 / R	16 / R	32 / R
38	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	0.25 / S
39	16 / R	16 / R	64 / R
40	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
41	>64 / R	>64 / R	>64 / R
42	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
43	16 / R	16 / R	32 / R
44	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
45	64 / R	64 / R	64 / R
46	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
47	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
48	>64 / R	>64 / R	>64 / R
49	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
50	32 / R	32 / R	64 / R
51	64 / R	64 / R	>64 / R
52	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
53	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
54	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
55	16 / R	16 / R	>64 / R
56	32 / R	32 / R	64 / R
57	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
58	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
59	32 / R	32 / R	32 / R
60	>64 / R	>64 / R	>64 / R
61	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
62	16 / R	16 / R	32 / R
63	16 / R	16 / R	>64 / R
64	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
65	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
66	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	0.25 / S
67	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
68	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
69	4 / I	8 / I	16 / R
70	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
71	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
72	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
73	16 / R	16 / R	64 / R
74	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
75	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$	$\leq 0.125 / S$
76	32 / R	64 / R	64 / R

77	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
78	>64 / R	>64 / R	>64 / R
79	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
80	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
81	64 / R	64 / R	>64 / R
82	>64 / R	>64 / R	>64 / R
83	≤0.125 / S	≤0.125 / S	0.25 / S
84	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
85	32 / R	32 / R	64 / R
86	64 / R	64 / R	>64 / R
87	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
88	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
89	≤0.125 / S	0.25 / S	0.25 / S
90	>64 / R	>64 / R	>64 / R
91	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
92	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
93	64 / R	64 / R	>64 / R
94	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
95	32 / R	32 / R	64 / R
96	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
97	32 / R	32 / R	>64 / R
98	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
99	32 / R	32 / R	64 / R
100	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
101	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
102	32 / R	32 / R	64 / R
103	64 / R	64 / R	64 / R
104	2 / S	2 / S	4 / I
105	64 / R	64 / R	64 / R
106	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
107	32 / R	32 / R	64 / R
108	1 / S	1 / S	0.25 / S
109	>64 / R	>64 / R	>64 / R
110	>64 / R	>64 / R	>64 / R
111	4 / I	4 / I	4 / I
112	32 / R	32 / R	64 / R
113	>64 / R	>64 / R	>64 / R
114	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
115	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
116	32 / R	32 / R	>64 / R
117	>64 / R	>64 / R	>64 / R
118	>64 / R	>64 / R	>64 / R
119	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
120	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
121	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
122	>64 / R	>64 / R	>64 / R
123	>64 / R	>64 / R	>64 / R
124	≤0.125 / S	≤0.125 / S	0.25 / S
125	>64 / R	>64 / R	>64 / R
126	>64 / R	>64 / R	>64 / R
127	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
128	64 / R	>64 / R	>64 / R
129	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
130	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
131	>64 / R	>64 / R	>64 / R
132	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
133	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
134	>64 / R	>64 / R	>64 / R
135	≤0.125 / S	≤0.125 / S	≤0.125 / S
136	0.25 / S	0.25 / S	0.5 / S

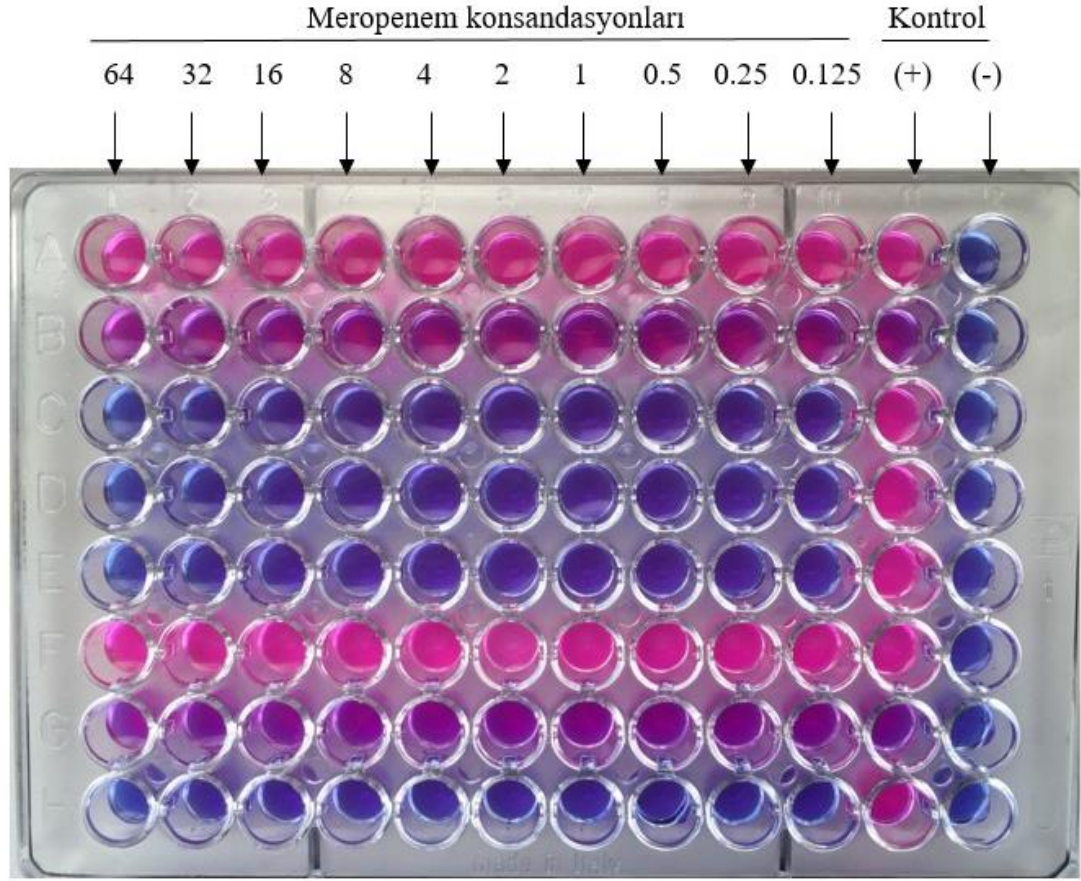
137	>64 / R	>64 / R	>64 / R
138	≤ 0.125 / S	≤ 0.125 / S	≤ 0.125 / S
139	64 / R	64 / R	>64 / R

S: Duyarlı, R: Dirençli

Meropenem duyarlılığının erken tespitinde resazurin mikroplak yöntemi ile çalışılan örnek plağın altıncı ve yedinci saat görüntüleri Şekil 4.4 ve 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.4. Meropenem resazurin testi 6. saat plağı



Şekil 4.5. Meropenem resazurin testi 7. saat plağı

Gentamisin için 6. saat sonuçlarında 128 (%92.08) izolat temel uyum gösterirken, 9 (%6.47) izolat iki dilüsyon düşük, 2 (%1.44) izolat dört veya daha fazla dilüsyon düşük olarak tespit edilmiştir. Gentamisin için 7. saat sonuçlarında 134 (%96.40) izolat temel uyum gösterirken, 4 (%2.88) izolat iki dilüsyon düşük, 1 (%0.72) izolat dört veya daha fazla dilüsyon düşük olarak tespit edilmiştir.

Meropenem için 6. saat sonuçlarında 127 (%91.36) izolat temel uyum gösterirken, 1 (%0.72) izolat iki dilüsyon yüksek, 7 (%5.04) izolat iki dilüsyon düşük, 3 (%2.16) izolat üç dilüsyon düşük, 1 (%0.72) izolat dört veya daha fazla dilüsyon düşük olarak tespit edilmiştir. Meropenem için 7. saat sonuçlarında 128 (%92.08) izolat temel uyum gösterirken, 1 (%0.72) izolat iki dilüsyon yüksek, 6 (%4.32) izolat iki dilüsyon düşük, 4 (%2.88) izolat üç dilüsyon düşük olarak tespit edilmiştir. Resazurin mikroplak ve mikrodilüsyon yöntemden elde edilen MİK sonuçlarının uyum oranı Tablo 4.3’de toplu olarak verilmektedir.

Tablo 4.3. Resazurin mikropalak ve mikrodilüsyon yöntemden elde edilen MİK sonuçlarının uyum oranı.

		≥-4	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	≥+4
Gentamisin	6. saat (n)	2		9	53	74	1			
	(%)	%1.44		%6.47	%38.12	%53.24	%0.72			
	7. saat (n)	1		4	56	77	1			
	(%)	%0.72		%2.88	%40.29	%55.40	%0.72			
	6. saat (n)	1	3	7	33	94		1		
	(%)	%0.72	%2.16	%5.04	%23.74	%67.62		%0.72		
Meropenem	7. saat (n)		4	6	31	97		1		
	(%)		%2.88	%4.32	%22.30	%69.78		%0.72		

Gentamisin için 6. saat sonuçları değerlendirildiğinde BH, ÇBH, KU ve TU değerleri sırasıyla: 0; 1 (%1.53); 138 (%99.28); 128 (%92.08) olarak tespit edilmiştir. Gentamisin için 7. saat sonuçları değerlendirildiğinde BH, ÇBH, KU ve TU değerleri sırasıyla: 0; 1 (%1.53); 138 (%99.28); 134 (%96.40) olarak tespit edilmiştir.

Meropenem için 6. saat sonuçları değerlendirildiğinde KH, BH, ÇBH, KU ve TU değerleri sırasıyla: 4 (%2.87); 0; 0; 135 (%97.12); 127 (%91.36) olarak tespit edilmiştir. Meropenem için 7. saat sonuçları değerlendirildiğinde KH, BH, ÇBH, KU ve TU değerleri sırasıyla: 4 (%2.87); 0; 0; 135 (%97.12); 128 (%92.08) olarak tespit edilmiştir. Resazurin mikropalak yönteminin hata ve uyum oranları Tablo 4.4’de toplu olarak verilmiştir.

Tablo 4.4. Resazurin mikropalak yönteminin hata ve uyum oranları

		Hata Oranı (%)			Uyum Oranı (%)	
		KH	BH	ÇBH	KU	TU
Gentamisin	6. saat (n)	-	0	1	138	128
	(%)	-	%0	%1.53	%99.28	%92.08
	7. saat (n)	-	0	1	138	134
	(%)	-	%0	%1.53	%99.28	%96.40
Meropenem	6. saat (n)	4	0	0	135	127
	(%)	%2.87	%0	%0	%97.12	%91.36
	7. saat (n)	4	0	0	135	128
	(%)	%2.87	%0	%0	%97.12	%92.08

KH: Küçük hata, BH: Büyük hata, ÇBH: Çok büyük hata, KU: Kategorik uyum, TU: Temel uyum

4.2. Tartışma

Enterobacteriaceae ailesine ait çoklu ilaca dirençli ve aşırı ilaca dirençli (XDR) türlerin neden olduğu enfeksiyon prevalansındaki çarpıcı artış, modern tıpta ve dünya çapında bir tehdit olarak kabul edilmektedir. Bu ailenin önemli bir üyesi olan *K. pneumoniae*, klinik ve halk sağlığı açısından endişe uyandırabilen bir türdür (Navon-Venezia et al., 2017).

Fırsatçı patojen olan *K. pneumoniae*, sağlıklı bireylerin bağırsaklarında, derisinde, burnunda ve boğazında asemptomatik olarak taşınır. Ancak hastanede yatan hastalarda pnömoni, yara, yumuşak doku veya idrar yolu enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olurlar (Holt et al., 2015). Günümüzde *K. pneumoniae*, Amerika Birleşik Devletleri'nde hastane kaynaklı pnömoninin en yaygın nedeni olarak kabul edilir ve tüm hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların %3 ila %8'ini oluştururlar (Wyreset al., 2020). Aynı zamanda antibiyotiklere karşı giderek direnç kazanması sonucu önemli enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (Effah et al., 2020).

Antibiyotiklere karşı dirençli olan *K. pneumoniae* suşları tedavi edilmesi zor enfeksiyonlara neden olabilmektedirler (Paczosa et al., 2016). Bu mikroorganizmanın antibiyotiklere direnç geliştirme insidansını gözlemlemek ve belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır (Joseph et al., 2015). Bu çalışmalar sonucunda aminoglikozitlere, karbopenemlere, sefalosporinlere ve florokinolonlara karşı direnç gösterme oranının önemli derecede arttığı görülmüştür (Hidron et al., 2008; Joseph et al., 2015). Ayrıca, bu türlerin oluşturduğu enfeksiyonlar genellikle yüksek mortaliteye, hastanede kalış süresinin uzamasına ve bunun sonucu maliyette artışa neden olmaktadır (Navon-Venezia et.al., 2017). *K. pneumoniae*'deki antimikrobiyal direnç tehdidini kontrol altına almada yapılması gerekenlerden biri güçlü bir sürveyans çalışmasıdır (Effah et al., 2020). Bunun yanında yapılması gerekenlerden bir diğeri de hızlı ve doğru sonuç veren antibiyotik duyarlılık testlerinin kullanılmasıdır (Kandavalli et al., 2022).

K. pneumoniae çoklu ilaca direnç geliştiren hastane salgınlara neden olan suşların ve ciddi toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olan hipervirülen suşların ortaya çıkmasıyla birlikte artık insan sağlığı için acil bir tehdit olarak kabul edilmektedir (Holt et al., 2015). Etkili tedavinin verilmediği her saat için ölüm riskinin arttığı tahmin edilen septik hastaların uygunsuz antibiyotiklerle tedavi edildiği taktirde, bunun mortalite sebeplerinden biri olabileceği bildirilmektedir (Kandavalli et al., 2022).

Antimikrobiyal direnç (AMR) Dünya Sağlık Örgütüne (DSÖ) göre, “Mikroorganizmanın başlangıçta duyarlı olduğu bir veya birden fazla antimikrobiyal maddeye karşı geliştirdiği direnç olup, antimikrobiyal ilaçların etkisiyle mücadele eder ve standart uygulanan tedavileri etkisiz hale getirir. Bunun sonucu enfeksiyonların uzun süre devam etmesini sağlayarak başkalarına yayılma riskini artırır” şeklinde tanımlanmaktadır (Joseph et al., 2015). Direnç ya doğal yollarla rekombinasyon olarak ve ya bakteri genomuna entegrasyon şeklinde içsel olarak geliştirilebilir ya da konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon gibi yatay gen mutasyonları sonucu da geliştirilebilir (Khan et al., 2019).

Antibiyotik duyarlılık testleri direnç ile ilişkili belirli genlerin veya gen ürünlerinin varlığını tespit eden genotipik testler ve antibiyotiklerin patojenler üzerindeki etkisini belirleyen fenotipik testler olarak ikiye ayrılabilirler (Tannert et al., 2019). Günümüzde klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık kullanılan standart fenotipik yöntemler disk difüzyon, gradyan difüzyon ve sıvı mikrodilüsyondur. Ayrıca

klirik mikrobryoloji laboratuvarlarında ticari otomatik sistemlerde rutin olarak kullanılmaktadır (Tannert et al., 2019). Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan standart antibiyotik duyarlılık yöntemleri güvenilir ve ucuz olmakla birlikte nispeten yavaş olduğu düşünölmektedir (Tannert et al., 2019; Wistrand-Yuen et al., 2020). Rutin kullanılan antibiyotik duyarlılık testleri, 24 ile 72 saat arasında sürebilmektedir (Pulido et al., 2013).

Ciddi enfeksiyonlarda antibiyotik tedavinin erken başlanabilmesine katkı sağlayacak, klinik sonuçları iyileştirecek, geniş spektrumlu antibiyotiklerin gereksiz kullanımını azaltacak ve böylece direnç gelişimi riskini en aza indirecek, hedefe yönelik antibiyotik seçimini reçete edilmesini mümkün kılacak, antibiyotik direnç sonuçlarını günler yerine saatler içerisinde sağlayabilecek yeni hızlı ve doğru sonuç veren yöntemlere ihtiyaç vardır (Tannert et al., 2019; Wistrand-Yuen et al., 2020). Bunun yanında hızlı ve etkili antibiyotik testleri, kan dolaşımı enfeksiyonu ve sepsis gibi ciddi enfeksiyonu olan hastalarda daha gerekli olabileceği de düşünölmektedir (Kadri et al., 2021).

Son yıllarda antibiyotik duyarlılık yöntemler için farklı ve genellikle yenilikçi teknoloji platformları geliştirilmektedir (Datar et al., 2022). Halı hazırda bu tür antibiyotik direnç profillerinin hızlı belirlenmesini sağlayabileceği düşünölen birçok yöntem test aşamasındadır (Tannert et al., 2019).

Son zamanlarda antibiyotik duyarlılık testlerini hızlı şekilde gerçekleştirilebilmek için mikro konsollar kullanılmaktadır. Bu yöntemde mikro hareketleri ile bakteriyel metabolizması tespit edilir. Farklı bakterilerde değişim göstermekle birlikte iki saat içinde antibiyotik duyarlılıkları saptanabilir (Syal et al., 2017). Plazmonik bir görüntöleme ve izleme tekniğı ile metabolik canlılıkla ilişkili tek bakteri hücrelerinin 3 boyutlu hareketlerini izlemek için kullanılır ve böylece hızlı ADT gerçekleştirilebilir (Syal et al., 2017). Akış sitometrisi, ADT gerçekleştirmek için etiketleme yoluyla morfoloji, hücre sayısı ve yaşayabilirliğini ölçeyebilen bir tekniktir (Syal et al., 2017).

Spencer ve arkadaşlarının geliştirdiğı Empedans tabanlı Hızlı Antimikrobiyal Duyarlılık Testi (iFAST) olarak adlandırdıkları teknikte ise, binlerce organizmanın elektriksel ve morfolojik olarak değişikliklerini mikroakışkan empedans sitometri kullanarak ölçüm yapılabilmektedir (Spencer et al., 2020). Aynı zamanda flüoresan, kolorimetrik ve elektrokimyasal mikroakışkan sensörler gibi yeni ortaya çıkan birkaç

yaklaşımında bulunmaktadır. Bunların içinde mikroakışkan tabanlı teşhis, antimikrobiyal duyarlılık testleri için en umut verici gelişmekte olan araçlardan biridir (Khan et al., 2019).

Wang ve Erickson'nun geliştirdiği yöntemde, sıvı mikrodilüsyonun işlevselliğini basitleştirilmiş bir biçimde çoğaltan yeni bir kağıt-mikroakışkan kullanarak, bakteriyel antibiyotik duyarlılığının yarı niceliksel bir biçimde kısa sürede görsel olarak okunabilen kağıt tabanlı bir test geliştirmişlerdir (Wang and Erickson, 2021).

Choi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada antibiyotik varlığında ince bir agaroz levha üzerinde büyüeyebilen tek hücredeki morfolojik değişikliği otomatik olarak kategorize ederek antimikrobiyal duyarlılığını 4 saat gibi kısa sürede hızlandırılmış görüntüleme tekniği geliştirmişlerdir (Choi et al., 2014).

Choi ve arkadaşların geliştirdikleri bir diğer hızlı duyarlılık yöntemi gram negatif patojenlerine uygulanabilen propidyum ve alamar mavisi ile çift boyamalı yöntemde umut verici hızlı bir yöntem olabileceği düşünülmektedir (Choi et al., 2020).

Hızlı antimikrobiyal direnç testinin geliştirilmesi, antibiyotik duyarlılık bilgilerinin erken elde edilmesinde, daha az laboratuvar testi istenmesinde, gerçekleştirilen invaziv prosedürlerin sayısını azaltılmasında ve hastanede yatış süresinin azaltılmasında sağlık hizmeti maliyetlerinin düşürülmesinde büyük katkı sağlayacağı çalışmalar sonucu gösterilmiştir (Pulido et al., 2013).

Resazurin (alamar mavisi) hücrenin canlılığı deneylerinde ve bakteriyel kontaminasyonu belirlemede kullanılabilmektedir. Bununla birlikte antimikrobiyal aktivitenin de belirlenmesinde kullanılan örneklerde bulunmaktadır (Palomino, et al., 2002 ; Hafez et al., 2017).

Hızlı bir antibiyogramın sonuç güvenilirliğini değerlendirmek, ABD Gıda ve İlaç Dairesi'ne (FDA) göre, altın standart yoluyla elde edilen antibiyograma kıyasla, kategorik uyum, küçük hatalar (hatalı orta duyarlılık sonucu), büyük hatalar (yanlış direnç) ve çok büyük hatalar (yanlış duyarlılık) olarak sınıflandırılır (March-Rosselló, 2017).

Needs vd. resazurin kullanarak uyguladıkları antibiyotik duyarlılık yönteminde 50 *E. coli* ve 49 *K. pneumoniae* izolatının ve 10 farklı antibiyotiğin dahil edildiği

çalışmada meropenem için KU %93, BU %0 ve ÇBU %4 gentamisin için de KU %93, BU %0 ve ÇBU %4 olarak tespit etmişlerdir (Needs et al., 2022).

Konu ile ilgili olarak, Gün vd. yaptığı çalışmada resazurin mikropalak yöntemi ile 110 *E. coli* klinik izolatının, farklı antibiyotiklere duyarlılıklarını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada gentamisin için KU, BU ve ÇBU sırasıyla; % 97.27, % 1.35 ve % 5.7 olarak tespit etmişlerdir (Gün et al., 2021).

Foerster vd. resazurin bazlı sıvı mikrodilüsyon testi ile 132 *Neisseria gonorrhoeae* dört antibiyotiğe karşı duyarlılığını belirleme çalışmasında genel olarak yöntemin referans yöntemle uyumu %97.1 ve özgüllüğü %78.5 olarak tespit etmişlerdir (Foerster et al., 2017).

Çoban konuyla ilgili yaptığı bir çalışmada 275 *Staphylococcus aureus* izolatında metisilin direncinin resazurin mikropalak yöntemi kullanılarak hızlı belirlenmesini araştırılmıştır. Bu çalışma sonucu KU, TU, BU ve ÇBU sırasıyla %100, %99.6, %0 ve %0 olarak tespit etmiştir (Çoban, 2012).

Çoban ve arkadaşları resazurin mikropalak yöntemi ile 90 *S. aureus* izolatının vankomisin ve oksasiline karşı direncini araştırdığı çalışmada vankomisin için KU, TU, BU ve ÇBU sırasıyla %98,9, %81,2, %0, %0 ve oksasilin için KU, TU, BU ve ÇBU sırasıyla %100, %86,5, %0, %0 sonuçlar bulunmuştur (Çoban et al., 2006).

Lescat vd. kolistine dirençli ve duyarlı 92 *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatı kullanarak resazurin indirgeme esaslı yaptıkları çalışmada standart brot mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırıldığında duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %100 ve %95 olarak bulmuşlardır (Lescat et al., 2019).

Jung vd. Rapid ResaPolymyxin yöntemi kullanarak toplam 135 *P. aeruginosa* ve 66 *A. baumannii* dahil ettikleri çalışmada standart yöntem ile duyarlılık ve özgüllük oranı sırasıyla %89.8 ve %100 olarak tespit etmişler (Jung et al., 2021).

Çalışmaya dahil edilen izolatların gentamisin için resazurin mikropalak yönteminin altıncı saat sonuçları ile mikrodilüsyon yönteminin bir gecelik inkübasyon sonunda tespit edilen sonuçları değerlendirildiğinde KU, TU, BU ve ÇBU sırasıyla; %99.28, %92.08, %0, ve %1.53 olarak tespit edildi. Gentamisin için yedinci saat sonuçları KU, TU, BU ve ÇBU sırasıyla; %99.28, %96.40, %0, ve %1.53 olarak tespit edildi. Gentamisin için altıncı ve yedinci saat sonuçları değerlendirildiğinde KU, BU ve ÇBU aynı; TU oranlarının ise birbirine yakın olduğu görülmüştür.

Meropenem için resazurin mikropalak yönteminin altıncı saat sonuçları ile mikrodilüsyon yönteminin bir gecelik inkübasyon sonunda tespit edilen sonuçları değeriendirildiğinde KU, TU, KÜU, BU ve ÇBU sırasıyla; %97.12, %91.36, %2.87, %0 ve %0 olarak tespit edildi. Meropenem için yedinci saat sonuçları KU, TU, KÜU, BU ve ÇBU sırasıyla; %97.12, %92.08, %2.87, %0 ve %0 olarak tespit edildi. Meropenem için altıncı ve yedinci saat sonuçları değeriendirildiğinde KU, KÜU, BU ve ÇBU aynı; TU oranlarının ise birbirine yakın olduğu görülmüştür.

Buna göre *K. pneunoniae* izolatlarında gentamisin ve meropenem duyarlılığını resazurin mikropalak yöntemi ile standart yönteme kıyasla ek bir cihaza ihtiyaç duymadan erken saatlerde tespit edilebilmesine olanak sağlama potansiyeli olduğu düşünölmektedir. Ancak resazurin mikropalak yönteminin standart yöntemlerle karşılaştırmalı olarak çok sayıda ve farklı izolatların dahil edildiği geniş çaplı tekrar edilebilirliğin değeriendirildiği çalışmalarıının yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünölmektedir.

5. SONUÇ

1. Gentamisin için resazurin mikroplak yönteminin 6. saati KU %99.28, TU %92.08, BU %0 ve ÇBU %1.53 olarak tespit edildi.

2. Gentamisin için resazurin mikroplak yönteminin 7. saati KU %99.28, TU %96.40, BU %0 ve ÇBU %1.53 olarak tespit edildi.

3. Gentamisin 6. ve 7. saat sonuçları arasında önemli bir fark görülmemiştir.

4. Meropenem için resazurin mikroplak yönteminin 6. saati KU %97.12, TU %91.36, KÜU %2.87, BU %0 ve ÇBU %0 olarak tespit edildi.

5. Meropenem için resazurin mikroplak yönteminin 7. saati KU %97.12, TU %92.08, KÜU %2.87, BU %0 ve ÇBU %0 olarak tespit edildi.

6. Meropenem 6. ve 7. saat sonuçları arasında önemli bir fark görülmemiştir.

7. Resazurin mikroplak yöntemi *K. pneumoniae* izolatlarında gentamisin ve meropenem duyarlılığını 6. ve 7. saatte tespit edilebilme potansiyeli olduğu düşünülmektedir.

8. Konu ile ilgili olarak çok sayıda ve farklı izolatların dahil edildiği, geniş çaplı, tekrar edilebilirliğin değerlendirildiği çalışmalarının yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aktaş, E. (2013). Sıvı mikrodilüsyon MİK plaklarının hazırlanması. Başustaoğlu A, Yıldırım Ş.T., Editörler. Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı (Çeviri). 3. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 5.15.
- Anjum, M. F. Zankari, E. and Hasman, H. (2018). Molecular Methods for Detection of Antimicrobial Resistance. *American Society for Microbiology, Washington, DC*.
- Appel, G. B., Neu, H. C. (1978). Gentamicin in 1978. *Annals of Internal Medicine*, 89(4), 528-538.
- Aydemir, Ş. Hasdemir, U. Gülay, Z. Karahan Z.C. (2016). Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kurallar. *Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*.
- Bengoechea, J. A., & Sa Pessoa, J. (2019). *Klebsiella pneumoniae* infection biology: living to counteract host defences. *FEMS microbiology reviews*, 43(2), 123-144.
- Bilgehan, H. (2009) Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 5 Baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi.
- Brisse S, Fevre C, Passet V, Issenhuth-jean S, Diancourt L, Grimont P. (2009) Virulent Clones of *Klebsiella pneumoniae* : Identification and Evolutionary Scenario Based on Genomic and Phenotypic Characterization.;4(3).
- Casciato, D. A., Rosenblatt, J. E., Bluestone, R., Goldberg, L. S., & Finegold, S. M. (1979). Susceptibility of isolates of *Bacteroides* to the bactericidal activity of normal human serum. *Journal of Infectious Diseases*, 140(1), 109-113.
- Choi, J., Yoo, J., Lee, M., Kim, E. G., Lee, J. S., Lee, S., & Kwon, S. (2014). A rapid antimicrobial susceptibility test based on single-cell morphological analysis. *Science translational medicine*, 6(267), 267ra174-267ra174.
- Choi, J., Baek, J., Kweon, D., Ko, K. S., & Yoon, H. (2020). Rapid determination of carbapenem resistance by low-cost colorimetric methods: *Propidium Iodide and alamar blue staining*. *journal of microbiology*, 58, 415-421.
- Clinical Excellence Commission, Adult Blood Culture Guideline, 2021.
- Çiftci A. Aksoy A. (2015). Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*;1(2).
- Çoban, A. Y., Bozdoğan, B., Cihan, C. C., Cetinkaya, E., Bilgin, K., Darka, O., ... & Appelbaum, P. C. (2006). Two new colorimetric methods for early detection of vancomycin and oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 44(2), 580-582.
- Çoban, A. Y. (2012). Rapid determination of methicillin resistance among *Staphylococcus aureus* clinical isolates by colorimetric methods. *Journal of clinical microbiology*, 50(7), 2191-2193.
- Datar, R., Orenge, S., Pogorelnik, R., Rochas, O., Simner, P. J., & van Belkum, A. (2022). Recent advances in rapid antimicrobial susceptibility testing. *Clinical chemistry*, 68(1), 91-98.
- Dong, N., Yang, X., Chan, E. W. C., Zhang, R., & Chen, S. (2022). *Klebsiella* species: Taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance. *EBioMedicine*, 79.
- Dolunay Gülmez. (2014). Antimikrobiyal direnci belirlemede fenotipik yöntemler veya klasik yöntemler. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA *Ankem der.*

- Dündar, D. (2013). *Sıvı mikrodilüsyon MİK testi*. Başustaoğlu A, Yıldırım Ş.T., Editörler. Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı (Çeviri) 3. Baskı, Ankara Atlas Kitapçılık.; 5.2.
- Edwards J. R. (1995). Meropenem: a microbiological overview. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 36 Suppl A, 1–17.
- Effah, C. Y., Sun, T., Liu, S., & Wu, Y. (2020). *Klebsiella pneumoniae*: an increasing threat to public health. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 19(1), 1-9.
- El Fertas-Aissani, R., Messai, Y., Alouache, S., & Bakour, R. (2013). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathologie Biologie*.
- Erdem, B. (1999). “Temel ve Klinik Mikrobiyoloji”. Ş. Ustaçelebi (ed.). *Enterobacteriaceae*. (s. 471-515). Ankara: Güneş kitabevi.
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2016). Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union.
- Fish, D. N., & Singletary, T. J. (1997). Meropenem, a new carbapenem antibiotic. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 17(4), 644-669.
- Follador, R., Heinz, E., Wyres, K. L., Ellington, M. J., Kowarik, M., Holt, K. E., & Thomson, N. R. (2016). The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microbial genomics*, 2(8).
- Foerster, S., Desilvestro, V., Hathaway, L. J., Althaus, C. L., & Unemo, M. (2017). A new rapid resazurin-based microdilution assay for antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 72(7), 1961-1968.
- Datar, R., Orenge, S., Pogorelnik, R., Rochas, O., Simner, P. J., & van Belkum, A. (2022). Recent advances in rapid antimicrobial susceptibility testing. *Clinical chemistry*, 68(1), 91-98.
- Grimont P.A.D, Grimont F. (2015). *Klebsiella*. *Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. *Bergey’s Manual Trust*.
- Günaydın, M. (2004). Gram negatif bakteri infeksiyonları. S.Ulusoy, H. Leblebicioğlu, D. Arman. (eds.). *Gram-negatif bakterileri ifeksiyonlarında mikrobiyoloji tanı*. (s. 45-68). Ankara: *Bilimsel tıp yayınevi*.
- Gün MA, Çaycı YT, Durupınar B, Çoban AY. (2021). A New Colorimetric Method for Rapid Detection of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* Isolates. *Jundishapur J Microbiol*;14(11):e119858.
- Gür, D. (2004). Gram negatif bakteri infeksiyonları. S.Ulusoy, H. Leblebicioğlu, D. Arman. (eds.). *Gram-negatif bakterilerde Antibakteriyel Direnç mekanizmaları*. (s. 69-83). Ankara: *Bilimsel tıp yayınevi*.
- Hafez, H. M., El Hamid, D. H. A., Fatma, A. Z. M., & Gomaa, D. T. (2017). Resazurin microplate assay: rapid assay for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 6, 174-181.
- Hasdemir, M.U. (2014). Antimikrobiyal Direncin Belirlenmesinde Moleküler Yöntemler *ANKEM Derg*; 28(Ek 2): 229-234.
- Hayward, R. S., Harding, J., Molloy, R., Land, L., Longcroft-Neal, K., Moore, D., & Ross, J. D. (2018). Adverse effects of a single dose of gentamicin in adults: a systematic review. *British journal of clinical pharmacology*, 84(2), 223-238.

- Hannah, S., Addington, E., Alcorn, D., Shu, W., Hoskisson, P. A., & Corrigan, D. K. (2019). Rapid antibiotic susceptibility testing using low-cost, commercially available screen-printed electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*, 145, 111696.
- Heller, A. A., & Spence, D. M. (2019). A rapid method for post-antibiotic bacterial susceptibility testing. *PLoS One*, 14(1), e0210534.
- Hidron, A. I., Edwards, J. R., Patel, J., Horan, T. C., Sievert, D. M., Pollock, D. A., & Fridkin, S. K. (2008). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29(11), 996-1011.
- Holt, K. E., Wertheim, H., Zadoks, R. N., Baker, S., Whitehouse, C. A., Dance, D., & Thomson, N. R. (2015). Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(27), E3574-E3581.
- Jung, H., Pitout, J. D., Mitton, B. C., Strydom, K. A., Kingsburgh, C., Coetzee, J., ... & Kock, M. (2021). Evaluation of the rapid ResaPolymyxin *Acinetobacter/Pseudomonas* NP test for rapid colistin resistance detection in lactose non-fermenting Gram-negative bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 70(6), 001373.
- Jo Seph, N. M., Bhanupriya, B., ShewaDe, D. G., & Harish, B. N. (2015). Relationship between antimicrobial consumption and the incidence of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 9(2), DC08.
- Jorgensen, J. H. and Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*; 49:1749–55
- Jorgensen, J. H. (2015). Turnidge Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. 11 th edition. *Manual of Clinical Microbiology*. 71-1253.
- Kadri, S. S., Lai, Y. L., Warner, S., Strich, J. R., Babiker, A., Ricotta, E. E., & Adjemian, J. (2021). Inappropriate empirical antibiotic therapy for bloodstream infections based on discordant in-vitro susceptibilities: a retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and mortality risk in US hospitals. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(2), 241-251.
- Kandavalli, V., Karempudi, P., Larsson, J., & Elf, J. (2022). Rapid antibiotic susceptibility testing and species identification for mixed samples. *Nature Communications*, 13(1), 6215.
- Khan, Z. A., Siddiqui, M. F., & Park, S. (2019). Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing. *Diagnostics*, 9(2), 49.
- Kaleli, Ğ.; Demir, M.; Cevahir, N.; Yıldırım, U. (2006). *Klebsiella* Suşlarında Siderofor ve Serum Direncinin Araştırılması. *Enfeksiyon Dergisi*. 20(2): 97-101.
- Kaleli, İ. (2009). Klinik mikrobiyoloji, Manual of clinical microbiology. A. Başustaoğlu.(ed.). *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas ve Diğer Enterobacteriaceae*. (s.698-715). Ankara: Atlas kitapçılık.
- Karatuna, O., Açıkgöz Z.C., Yıldız, S.S. Özkütük, A.A., Karadenizli, A., A. (2017) Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Türkçe baskısı. Başustaoğlu, D.Us. (eds.). Antibiyotik direncinin gelişimi ve yayılımı (s.1075-1079). *Ankara :Hipokrat Yayınevi*.

- Kayacan,Ç.B. (2009). Klinik mikrobiyoloji, Manual of clinical microbiology. A. Başustaoglu.(ed.). Duyarlılık test yöntemleri: Genel konular. (s.1146-1151). Ankara: Atlas kitapçılık.
- Kuş, H., Arslan, U., & Fındık, D. (2017). Investigation of various virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from nosocomial infections. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 51(4), 329-339.
- Lescat, M., Poirel, L., Tinguely, C., & Nordmann, P. (2019). A resazurin reduction-based assay for rapid detection of polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of clinical microbiology*, 57(3), 10-1128.
- Li, Y., Yang, X., & Zhao, W. (2017). Emerging microtechnologies and automated systems for rapid bacterial identification and antibiotic susceptibility testing. *SLAS TECHNOLOGY: Translating Life Sciences Innovation*, 22(6), 585-608.
- March-Rosselló, G. A. (2017). Rapid methods for detection of bacterial resistance to antibiotics. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica (English ed.)*, 35(3), 182-188.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., & Tasak, N. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655.
- Morales-López S, Yepes JA, Prada-Herrera JC, Torres-Jiménez A (2019) *Enterobacteria* in the 21st century: a review focused on taxonomic changes. *J Infect Dev Ctries* 13:265-273. doi: 10.3855/jidc.11216
- Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K., & Carattoli, A. (2017). *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*, 41(3), 252-275.
- Needs, S. H., Saiprom, N., Rafeque, Z., Imtiaz, W., Chantratita, N., Runcharoen, C., & Edwards, A. D. (2022). Miniaturised broth microdilution for simplified antibiotic susceptibility testing of Gram negative clinical isolates using microcapillary devices. *Analyst*, 147(15), 3558-3569.
- Özakın, C. (2008). Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyolojisi. A.W.Topçu, G.Söyletir, M. Doğanay. (eds.). *Klebsiella türleri*. (s.2147-2159) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 3. Baskı.
- Paczosa, M. K., & Mecsas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiology and molecular biology reviews*, 80(3), 629-661.
- Palomino, J. C., Martin, A., Camacho, M., Guerra, H., Swings, J., & Portaels, F. (2002). Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(8), 2720-2722.
- Pulido, M. R., García-Quintanilla, M., Martín-Peña, R., Cisneros, J. M., & McConnell, M. J. (2013). Progress on the development of rapid methods for antimicrobial susceptibility testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(12), 2710-2717.
- Podschun R. Ullmann U. (1998). *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clin Microbiol Rev* 589-603.
- Podschun, R., Pietsch, S., Höller, C., & Ullmann, U. (2001). Incidence of *Klebsiella* species in surface waters and their expression of virulence factors. *Applied and environmental microbiology*, 67(7), 3325-3327.
- Rampersad, S. N. (2012). Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors*, 12(9), 12347-12360.

- Ristuccia, P. A., & Cunha, B. A. (1984). *Klebsiella*. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 5(7), 343-347.
- Singh, N., Muller, A., Hara, G. L., Castro, J. L., & Ramon-Pardo, P. (2017). Antibiotic Awareness Week and hospital antimicrobial use point prevalence study. *infection control & hospital epidemiology*, 38(12), 1498-1500.
- Spencer, D. C., Paton, T. F., Mulrone, K. T., Inglis, T. J., Sutton, J. M., & Morgan, H. (2020). A fast impedance-based antimicrobial susceptibility test. *Nature communications*, 11(1), 5328.
- Syal, K., Mo, M., Yu, H., Iriya, R., Jing, W., Guodong, S., ... & Tao, N. (2017). Current and emerging techniques for antibiotic susceptibility tests. *Theranostics*, 7(7), 1795.
- Tannert, A., Grohs, R., Popp, J., & Neugebauer, U. (2019). Phenotypic antibiotic susceptibility testing of pathogenic bacteria using photonic readout methods: recent achievements and impact. *Applied microbiology and biotechnology*, 103, 549-566.
- Terzi, H.A., Karakeçe, E., Çiftçi İ.H. (2013). spp. İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Değerlendirmesi. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021. (<http://www.eucast.org>).
- Tokur, O. Aksoy, A. (2017). In Vitro Sitotoksikite Testleri Harran Üniv Vet Fak Derg; 6 (1): 112-118.
- Tibbetts, R., George, S., Burwell, R., Rajeev, L., Rhodes, P. A., Singh, P., & Samuel, L. (2022). Performance of the reveal rapid antibiotic susceptibility testing system on gram-negative blood cultures at a large urban hospital. *Journal of clinical microbiology*, 60(6), e00098-22.
- Tünger A., Çavuşoğlu C., Korkmaz M. (2005). *Asya Mikrobiyoloji*. Dördüncü baskı. Asya Tıp Kitabevi. 158-159.
- US Food and Drug Administration. (2003). *Class II special controls guidance document: antimicrobial susceptibility test (AST) systems*; guidance for industry and FDA. *US Food and Drug Administration, Rockville, MD*.
- Van Belkum, A., Bachmann, T. T., Lüdke, G., Lisby, J. G., Kahlmeter, G., Mohess, A., ... & JPIAMR AMR-RDT Working Group on Antimicrobial Resistance and Rapid Diagnostic Testing. (2019). Developmental roadmap for antimicrobial susceptibility testing systems. *Nature Reviews Microbiology*, 17(1), 51-62.
- Yenen O.Ş. (2015). Jawetz, Melnick & Adelberg'in Tıbbi Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri birinci baskı.
- Zarakolu, P. (2004). Gram negatif bakteri enfeksiyonları. S.Ulusoy, H. Leblebicioğlu, D. Arman. (eds.). Gram-negatif bakterilerin temel mikrobiyolojik özellikleri (s. 9-43). Ankara: *Bilimsel tıp yayınevi*.
- Zarakolu, I.P. (2016). Murray R.P. Tıbbi mikrobiyoloji. A.D.Us ve A. Başustaoğlu (eds.). *Enterobacteriaceae*. (s.258-272). Ankara: Pelikan kitabevi.
- Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17)
- Wistrand-Yuen, P., Malmberg, C., Fatsis-Kavalopoulos, N., Lübke, M., Tängdén, T., & Kreuger, J. (2020). A multiplex fluidic chip for rapid phenotypic antibiotic susceptibility testing. *MBio*, 11(1), e03109-19

Wyres, K. L., Lam, M. M., & Holt, K. E. (2020). Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Reviews Microbiology*, 18(6), 344-359.





T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/203

27.04.2023

Sayın Doç. Dr. Kemal BİLGİN

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Antibiyotik Duyarlılığının Hızlı Yöntem Kullanılarak Tespit Edilmesi başlıklı OMÜ KAEK 2023/126 Karar nolu Mikrobiyoloji çalışması nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik kurulu yönergesine göre 27.04.2023 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanamadığından projeye bütçe desteği sağlanıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra başlanmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof.Dr Ramis Çolak
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ÖZ GEÇMİŞ

Nurjemal Annalyeva, Halaç etraby 13. Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Biyoloji öğretmenliği bölümünden 04.06.2020 tarihinde mezun oldu. 2020 yılında OMÜ LEE Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. Mezuniyetinden bu yana görev yapan Nurjemal Annalyeva orta derecede İngilizce /orta derecede Rusça bilmektedir.

Temel ilgi alanları, Tarih, Teknoloji.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0009000792372627

Yayınlar:

1. Meropenem Duyarlılığının *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Hızlı Yöntem Kullanarak Tespit Edilmesi. (2022). Nurjemal Annalyeva, Kemal Bilgin, Demet GÜR VURAL, Yeliz Tanrıverdi Çaycı , Asuman Birinci. XL Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Kongresi Antalya.
2. *Escherichia coli* İzolatlarında Seftriakson Duyarlılığının Hızlı Yöntem Kullanarak Tespit Edilmesi. (2023). Nurjemal Annalyeva, Kemal Bilgin, Demet GÜR VURAL, Yeliz Tanrıverdi Çaycı , Asuman Birinci. 11th International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. Türkiye bursları : Başarı Bursu