



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-YL-2010-003

KÖPEKLERİN İDRAR ÖRNEKLERİNDEN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* İDENTİFİKASYONU ve ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Vet. Hek. Andaç GÜLEN (UZER)

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Şükrü KIRKAN**

AYDIN-2010

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-YL-2010-003**

**KÖPEKLERİN İDRAR ÖRNEKLERİNDEN *KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE İDENTİFİKASYONU ve ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARI**

Vet. Hek. Andaç GÜLEN (UZER)

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Şükrü KIRKAN**

AYDIN-2010

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Epidemiyoloji	2
1.2. Taksonomi	5
1.3. Klebsiella Türlerinin Farklılıkları	6
1.4. Klebsiella İzolatlarının Tiplendirilmesi	7
1.4.1. Biyotiplendirme	7
1.4.2. Serotiplendirme	8
1.4.3. Faj Tiplendirme	8
1.4.4. Bakteriyosin Tiplendirme	9
1.4.5. Moleküler Tiplendirme	9
1.5. Klebsiella Cinsinin Patojenite Faktörleri	10
1.5.1. Kapsüler Antijenler	11
1.5.2. Pilus (Fimbria)	13
1.5.2.1. Tip 1 pilus	14
1.5.2.2. Tip 3 pilus	15
1.5.3. Serum Direnci ve Lipopolisakkarit	16
1.5.4. Sideroforlar	18
1.6. Aşı Geliştirme Çalışmaları	20
1.6.1. Lipopolisakkaritler	21
1.6.2. Kapsüler polisakkaritler	21
1.7. Veteriner Hekimlikte Klebsiella Enfeksiyonları	22
2. GEREÇ VE YÖNTEM	24
2.1. Gereç	24
2.1.1. Örnekler	24
2.1.2. Besiyerleri	24

2.1.2.1. İzolasyon besiyerleri	24
2.1.2.2. İdentifikasyon besiyerleri	24
2.1.2.3. Lassen'in 3'lü tüp besiyerleri	25
2.1.3. Ayıraçlar	27
2.1.3.1. İndol ayıracı	27
2.1.3.2. Nitrat ayıraçları	28
2.1.3.3. Boyalar	28
2.1.3.5. API-20E Bakteriyel İdentifikasyon Test Kiti	28
2.1.3.4. Antibiyotik Diskleri	28
2.1.4. Yöntem	28
2.1.4.1. Mikrobiyolojik Muayene	28
2.1.4.1.1. Örneklerden Patojen Etken İzolasyonu	28
2.1.4.1.2. İzole edilen suşların identifikasyonu	29
2.1.4.1.2.1 Gram boyama özelliğinin belirlenmesi	29
2.1.4.2. Biyokimyasal testler	29
2.1.4.2.1. Katalaz testi	29
2.1.4.2.2. Koagulaz Testi	30
2.1.4.2.3. Oksidaz testi	30
2.1.4.2.4. Nitrat testi	30
3. BULGULAR	31
4. TARTIŞMA	35
5. SONUÇ	39
ÖZET	40
SUMMARY	41
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	58
TEŞEKKÜR	59

KISALTMALAR

GSBL Geniş Spektrumlu Beta laktamaz

ÜSİ Üriner Sistem Enfeksiyonları

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Farklı taksonomik sistemler ile <i>Klebsiella</i> cinsinin tür klasifikasyonu	5
Çizelge 1.2.	<i>Klebsiella</i> türlerinin biyokimyasal reaksiyonları	7
Çizelge 3.1.	İdrar örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar	32
Çizelge 3.2.	Kullanılan antibiyotiklerin etki derecelerine göre inhibisyon zon sınırları	33
Çizelge 3.3.	Antibiyotik duyarlılıklarının izolatlara göre dağılımı	34

ŞEKİLLER

- Şekil 1.1.** Fibrilöz kapsüler maddenin kalın tabakaları tarafından çevrelenen *K. pneumoniae* hücrelerinin transmisyon elektron mikrofrafisi 12

ÖNSÖZ

Klebsiella türleri fırsatçı patojenlerdir ve sepsisemi, pnömoni, üriner sistem ile yumuşak doku enfeksiyonları gibi birçok hastalığa yol açabilmektedirler. *Klebsiella* enfeksiyonları tipik olarak nozokomiyaldir. Altta yatan başka hastalıkları olan, hospitalize edilen ve immunocompromised hastalar, bu bakterinin esas hedefidir. Böylece, *Klebsiella* enfeksiyonları, hastane kaynaklı enfeksiyonların bir örneği olarak rol oynamaktadır. Tüm hastane kaynaklı enfeksiyonlar içindeki % 5-7'lik oranı, onları en önemli nozokomiyal patojenler arasında sınıflandırır.

Nozokomiyal *Klebsiella* enfeksiyonları, gelişmiş ülkelerde ekonomi üzerinde ve hastaların ortalama ömürleri üzerinde ağır bir yük olmayı sürdürmektedir. Hastane enfeksiyonları önlem ve kontrol programları, geçmişte bu enfeksiyonların idare ve kontrolünde önemli gelişmeleri başlatmıştır.

Nozokomiyal *Klebsiella* enfeksiyonlarından korunmada tek olası yol, risk altındaki kişilerin aşılmasıdır. Aktif veya pasif immunizasyon olup olmadığına bakmadan, kimleri aşılacak gerektiği sorusu önem kazanmaktadır. Ölümcül *Klebsiella pnömoni* ve sepsisemi engellemek için hospitalize edilen immunocompromize hastaların aşılmasında küçük uyumsuzluk beklenmekte ve diğer hasta gruplarında immunolojik yöntemlerin gerekçesi tartışılmaktadır. Yaşlı bireylerde *Klebsiella* ÜSE, bu hususta iyi bir örnektir. Birçok bakteriyel piyelonefritis vakası, *Klebsiella*'dan kaynaklanmayıp, *E. coli* türlerinden kaynaklanmaktadır. Her ne kadar *Klebsiella* türleri ÜSE'lerinin predominant sebebi olmasalar da, basit bir enfeksiyon olayından sonra önemli renal skarlaşmaya neden olabilirler. Ayrıca, bu üropatojenlerden kaynaklanan enfeksiyonların, *E. coli* türlerinin yol açtığı enfeksiyonlara oranla ölüme yol açması daha olasıdır.

Klebsiella etkenlerinin veteriner sahada da sığırlarda mastitis, kısırlıklarda metritis, buzağılarda sepsisemi, köpeklerde pnömoni ve üriner sistem enfeksiyonları, taylarda pnömoni ve sepsisemi enfeksiyonlarını yaptığı ve araştırmaya yönelik faaliyetlerin az olduğu düşünüldüğünde konunun önemi daha iyi anlaşılmaktadır.

Bu alışma, “Köpeklerin İdrar rneklerinden *Klebsiella pneumoniae* İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıkları” adlı ve *SAE 09001* kodlu proje olarak **Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri** tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

1. GİRİŞ

Klebsiella türlerinin, hastane kaynaklı olmayan bakteriyel pnömonilere neden olduğu klinisyenlerce iyi bilinmektedir. *Klebsiella* enfeksiyonları sağıtılmadıklarında, yüksek ölüm oranı ile seyreden şiddetli piyojenik enfeksiyonların geliştiği gözlenmektedir. Bununla beraber, *Klebsiella* enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunun hastane kaynaklı olduğu görülmektedir.

Klebsiella spp. fırsatçı patojenler olarak, özellikle hospitalize edilen ve diabetes mellitus veya kronik pulmoner obstruksiyon gibi altta yatan şiddetli hastalıkları olan immun sistemi zayıf bireylerde ortaya çıkar. Nozokomiyal *Klebsiella* enfeksiyonlarına çoğunlukla, cinsinin en önemli türü olan *Klebsiella pneumoniae* neden olmaktadır. *Klebsiella oxytoca* ise klinik örneklerden çok daha düşük oranda izole edilmektedir. ABD ve Avrupa'da nozokomiyal enfeksiyonların %8'ine *Klebsiella spp.*'in neden olduğu tahmin edilmektedir. Çok büyük coğrafi varyasyon sıklığı kaydedilmemiştir. ABD'de *Klebsiella* tüm nozokomiyal bakteriyel enfeksiyonlarının %3'ü ile 7'si arasında rapor edilmiştir ve hastanelerde en önemli sekiz enfeksiyöz patojen arasında yer almaktadır (Horan ve ark 1988, Schaberg ve ark 1991). İngiltere (Bergogne- Berezin 1995) ve Almanya'dan (Ullmann 1986) toplanan veriler, Hastalık Kontrol ve Önlem Merkez'i tarafından rapor edilen verilere büyük ölçüde benzerlik göstermektedir.

Tablo 1'de *Klebsiella*'nın en sık neden olduğu nozokomiyal enfeksiyonlar listelenmiştir. Üriner sistem, enfeksiyonun en çok rastlandığı yerdir. Nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarında *Klebsiella* % 6 ile 17 arasında rapor edilmiştir ve nöropatik mesaneli veya diabetes mellituslu gibi risk altındaki özel grup hastalarda yüksek insidans gösterir (Bennett ve ark 1995, Lye ve ark 1992). Nozokomiyal gram negatif bakteremiye neden olunmasında *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*'den sonra ikincidir (Bryan ve ark 1983, Duggan ve ark 1985, Pittet ve ark 1993, Yinnon ve ark 1996). Pediatrik bölümlerde, nozokomiyal *Klebsiella* enfeksiyonları özellikle güçtür, bilhassa prematüre bebeklerde ve yoğun bakım ünitelerinde. *Klebsiella* türleri, erken ve geç beliren enfeksiyonlarda neonatal sepsislere sıklıkla yol açan patojenlerdir (Gotoff 1992).

Antibiyotik dirençli, özellikle GSBL üreten türlerin geniş dağılımından ötürü, *Klebsiella* infeksiyonları yeniden ilgi çekmiştir.

1.1. Epidemiyoloji

Klebsiella türlerine doğada her yerde rastlanır. *Klebsiellae* muhtemelen iki yaygın habitata sahiptir; bunlardan biri su yüzeyinde, lağımda, toprakta ve bitkilerde bulunduğu çevredir (Bagley ve ark 1978, Brown ve Seidler 1973, Edberg ve ark 1986), diğeri ise kolonize oldukları insanlar, atlar veya domuzlar gibi memelilerin mukozal yüzeyleridir. Buna göre, *Klebsiella* cinsi *Enterobacter* ve *Citrobacter*'e benzer, fakat insanlarda yaygın olup da çevrede yaygın olmayan *Shigella spp.* veya *E. coli*'ye benzemez.

İnsanlarda *K. pneumoniae*, nazofarinks ve intestinal sistemde saprofit olarak bulunur. Taşıyıcı oranları çalışmadan çalışmaya epeyce farklılık gösterir. Nazofarinksten tespit oranı % 1–6 arasında değişirken, dışkı örneklerindeki tespit oranı % 5–38 arasında değişir (Davis ve Matsen 1974, Rose ve Schreier 1968). Gram negatif bakteriler insan derisinde uygun üreme koşulları bulamadığından (Rosebury 1962), *Klebsiella spp.* nadiren deride bulunmuştur ve floranın sadece geçici üyeleri olarak ele alınmıştır (Kloss ve Musselwhite 1975).

Hastane ortamındaki kolonizasyon oranındaki artış, direkt olarak hastanede kalma süresiyle hatta hastane personelinin *Klebsiella* nakil oranını yükseltmesiyle orantılıdır (Casewell ve Phillips 1978, Cooke ve ark 1979). Hastanede yatan hastalardan rapor edilen taşıyıcı oranları dışkıda % 77, farinkste % 19 ve hastaların ellerinde % 42'dir (Cooke ve ark 1979, Davis ve Matsen 1974, Johanson ve ark 1969, Pollack ve ark 1972). Nozokomiyal *Klebsiella* kolonizasyonlarının yüksek oranı, hastanedeki korumaya bağlı faktörlerden antibiyotik kullanımıyla ilişkili gibi görünmektedir (Pollack ve ark 1972, Rose ve Schreier 1968). Önceki antibiyotik tedavisi önemli ölçüde hastanın *Klebsiella* almasıyla ilişkilidir. Bir çalışmada, hastaneye girişten iki hafta sonra, *Klebsiella* kolonizasyon oranlarındaki ikiden dörde katlanan artış dikkat çekmiştir (Pollack ve ark 1972); bu artış başlıca, antibiyotik alan hastalarda, özellikle geniş spektrumlu veya çoklu antibiyotik kullanan kişilerde meydana gelmiştir. Hastanelerde lokal antibiyotik politikası, kolonizasyon numunesinin esas belirleyicisidir. Hastane kaynaklı intestinal *Klebsiella* taşıyan hastaların, taşımayanlara oranla *Klebsiella* nozokomiyal enfeksiyonuna yakalanma oranının 4 kez daha fazla olduğu gözleminde yola çıkılarak, artmış kolonizasyonun önemi gösterilmiştir (Selden ve ark 1971). Bunun yanında, antimikrobiyal tedavinin yaygın kullanımı, sık sık hastanelerdeki çoklu

direnç *Klebsiella* türlerinin ortaya çıkmasından sorumlu tutulmuştur. Çünkü bu istenmeyen etkiler dikkatli antibiyotik kullanımıyla tersine döndürülebilir. Profilaksi ve ampirik tedavide antibiyotiklerin fazla kullanımından kaçınma stratejileri için talepler artarak belirtilmektedir (Selden ve ark 1971, Tullus ve ark 1988).

Medikal malzemelerden (eksik hijyenik prosedürlerden ötürü) ve kan ürünlerinden ayrı olarak (Jumaa ve Chattopadhyay 1992, Goetz ve ark 1995), hastane ortamında *Klebsiella* transferi için esas rezervuarlar, hastaların gastrointestinal sistemleri ve hastane personellerinin elleridir (Montgomerie 1979). Organizmanın hızla yayılma yeteneği (Kühn ve ark 1993) özellikle neonatal ünitelerde sık sık nozokomiyal salgınlara neden olur (Hart 1993). 1983 ile 1991 yılları arasında İngiltere’de yapılan bir araştırmada, 145 epidemik nozokomiyal enfeksiyondan 13’üne *Klebsiella*’nın sebep olduğu rapor edilmiştir (Doebbeling 1993). Hastalık Kontrol ve Önlem Merkezlerinin istatistiklerine göre, *Klebsiella* spp. endemik hastane enfeksiyonlarının % 8’ini ve epidemik salgınlara % 3’ünü oluşturmaktadır (Stamm ve ark 1981).

Özellikle korkulan, çoklu direnç gösteren türlerin neden olduğu epidemik hastane enfeksiyonlarıdır. 1970’lerde aminoglikozid-dirençli *Klebsiella* türleri başlıca yer tutmaktaydı (Martin ve ark 1971, Christensen ve Korner 1972, Cruie ve ark 1978). 1982’den bu yana GSBL üreten ve onları geniş-spektrumlu sefalosporinlere karşı dirençli kılan türler gelişmiştir (De Champs ve ark 1991, Coovadia ve ark 1992, Gür ve ark 1992, Bauernfeind ve ark 1993, French ve ark 1996,). Seftazidime dirençli olan bu türlerin ayırıcı özellikleri, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* izolatlarının her ikisinde de gözlemlenmiştir (Smith ve Chambers 1995).

Seftazidim-dirençli *Klebsiella* türlerinin betalaktamazları, Amerika’da TEM–10 ve TEM–12 enzimi üreten tiplerinde yaygınken, Avrupa’da genellikle SHV–5 tipindedir (Bauernfeind ve ark 1993, Medeiros 1993, Legakis ve ark 1995, French ve ark 1996, Jacoby 1996). Amerikada GSBL-üreten *Klebsiella* izolatlarının % 5’inin, Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Çalışma Sistemi’nde test edilen *K. pneumoniae* olduğu rapor edilmiştir (Jacoby 1996). Avrupa’da bu gibi türlerin görülme sıklığı da yüksektir. Fransa ve İngiltere’de klinik *Klebsiella* izolatları arasından GSBL üretenlerin yüzdesi 14 ile 16 arasında rapor edilmiştir (Sirot 1995). Özel bölgelerde ve hastanelerde bu oran % 25 ile % 40 arasına ulaşabilir (Burwen ve ark 1994). Buna rağmen, seftazidim-dirençli türlerin yüzdesi daha yüksek olabilir. Çünkü rutinde kullanılan konvansiyonel disk difüzyon tekniği bu izolatların oranını düşük olarak verir (Jacoby ve Han 1996).

GSBL'lar çoğunlukla plazmid aracılığıyla. Bu plazmidler *Enterobacteriaceae*'nın farklı üyeleri arasında kolaylıkla iletiildiği için, direnç genlerinin birikimi multirezistant plazmidleri içeren türlerle sonuçlanır. Bu nedenle, GSBL üreten izolatlar çeşitli sınıflardaki antibiyotiklere karşı dirençlidir. Üstelik çoklu direnç gösteren *Klebsiella* türlerinin ortaya çıkması, ne yazık ki GSBL'leri kodlayan plazmidlerin oldukça yüksek stabilitesini de beraberinde getirmiştir. Seftazidim ve diğer geniş spektrumlu sefalosporinlerin kesilmesinden sonraki yıllarda bile, GSBL-üreten *Klebsiella* türleri tarafından kolonizasyonu tamamlanmış hastalar gözlemlenmiştir (Hibbertrogers ve ark 1995). Bu türlerin alınmasındaki risk faktörleri, hastanede kalma uzunluğuyla ve yayılma prosedürünün yerine getirilmesiyle görülür (Lucet ve ark 1996).

GSBL üretim sıklığından beri, antibiyotiklere çoklu-direnç de beraberinde gelmiştir ve tedavi seçenekleri sınırlanmıştır. Bununla birlikte günümüze kadar, GSBL-üreten *Klebsiella* türleri imipenem veya meropenem gibi karbapenemlere duyarlıdır. Her iki antibiyotik, GSBL-üreten organizmalardan kaynaklanan infeksiyonların tedavisinde seçilen ilaçlardır. Bu hususta yeni inceleme çok endişe vericidir. İmipeneme ekstra direnç gösteren GSBL-üreten *K. pneumoniae* türleri izole edildiği bildirilmeye başlanmıştır. İzole edilen bu türler, nakledilebilir plasmid-mediated AmpC-tip beta laktamaza sahiptirler. İmipenem-dirençli GSBL-üreten *Klebsiella* türlerinin belirmesi, kalıcı terapötik seçimler üzerinde güçlü bir tesire sahip olacağından adım adım izlenmelidir (Bradford ve ark 1997).

Son birkaç yılda, izole edilen her *Klebsiella* türünün bir GSBL üreticisi olup olmadığını belirlemenin gerekli olup olmadığı sorusu ortaya çıkmıştır. Yanıt, ülke veya hastanenin epidemiyolojik durumuna dayanır, fakat seftazidim-dirençli türlerin yüksek yüzdesi bekleniyorsa bu kesinlikle olumlu olmalıdır. Bugüne kadar, bu gibi izolatların tespitinde iki diyagnostik test kullanılmıştır. Çift-disk sinerji testinde, klavulanik asit diski ve geniş-spektrumlu sefalosporin diski test organizmasının bulunduğu agar yüzeyinde yakın yerleştirilmiştir (Jarlier ve ark 1988). Sefalosporin diskinin etrafındaki inhibisyon alanındaki klavunat içeren diske doğru olan artış, GSBL-üreten türlerin varlığını gösterir. GSBL tarayan E test çubukları ticari olarak elde edilebilir. Bu metot, seftazidim ve seftazidim+klavulanik asitin antimikrobiyal aktiviteleri arasındaki farklılığın değerlendirilmesine dayanmaktadır (Katsanis ve ark 1994).

Klebsiella'nın nozokomiyal yayılışını engellemek için çok sayıda önlemin tavsiye edildiği unutulmamalıdır. Üriner kateterlerin kullanılması, intravenöz trakeostomi ve yaralar,

malzemelerin bakım ve korunması, iyi el yıkama gibi uygulamaların tümü için temel epidemiyolojik standartlara sıkı bağlılık göstermek, nozokomiyal *Klebsiella* enfeksiyonlarının engellenmesine yardımcı olur. Bu konudaki detaylı bilgi, Montgomerie tarafından çok iyi bir incelemeyle verilmiştir. *Klebsiella* enfeksiyonlarının kontrolünde diğer bir önlem ise, hastanelerde antibiyotiklerin yanlış ve fazla kullanımının engellenmesidir. Bunun yanında, *Klebsiella* enfeksiyon oranlarının önlem ve kontrolünde kullanılan verileri toplamak için nozokomiyal enfeksiyonun gözetimi gereklidir (Montgomerie 1979).

1.2. Taksonomi

Klebsiella cinsinin (*Enterobacteriaceae* familyası) medikal önemi, neden olduğu hastalıklara uygun olarak bu cinsi üç türe ayırmaktadır: *K. pneumoniae*, *K. ozaenae* ve *K. rhinoscleromatis*. Numerikal taksonomi gibi yeni metotların gelişmesiyle, taksonomi gittikçe artarak saflaşmıştır. Bu cinsteki türlerin sınıflandırılması devamlı olarak tekrar gözden geçirilip düzeltilmiştir. Günümüzde, Cowan, Bascomb ve Ørskov'a ait üç ana klasifikasyon bulunmaktadır (Çizelge 1.1.)

Çizelge 1.1. Farklı taksonomik sistemler ile *Klebsiella* cinsinin tür klasifikasyonu

Cowan	Bascomb	Ørskov
<i>K. aerogenes</i>	<i>K. aerogenes/oxytoca/</i>	<i>K. pneumoniae</i>
<i>K. edwardsii</i>	<i>edwardsii</i>	<i>subsp. pneumoniae</i>
<i>subsp. edwardsii</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>subsp. ozaenae</i>
<i>subsp. atlantae</i>	<i>sensu stricto</i>	<i>subsp. rhinoscleromatis</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>sensu lato</i>	<i>K. oxytoca</i>
<i>K. ozaenae</i>	<i>K. ozaenae</i>	<i>K. terrigena</i>
<i>K. rhinoscleromatis</i>	<i>K. rhinoscleromatis</i>	<i>K. planticola</i> (syn.
	<i>K. "unnamed group"</i>	<i>K. trevisanii</i>)
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>K. ornithinolytica</i>

1980'lerin başında, çevreden izole edilen, öncesinde '*Klebsiella*-benzeri organizmalar' (J, K, L ve M grupları) olarak sınıflandırılan *Klebsiella*, geçici taksonomi içinde sınıflandırılıyordu (Gavini ve ark 1977). Bu gruplar 4 yeni türü ortaya çıkarmıştır: *K. terrigena* (Izard ve ark 1981), *K. ornithinolytica* (Sakazaki ve ark 1989), *K. planticola* (Bagley ve ark 1981) ve *K. trevisanii* (Ferragut ve ark 1983). 1986'da, son iki tür DNA zincir benzerliği nedeniyle *K. planticola* olarak tek bir türde birleştirilmiştir (Gavini ve ark 1986). Su, botanik ve toprak ortamlarının sınırlılığı ve klinik önemi dışında başlangıçta göz önünde tutulan *K. terrigena* ve *K. planticola*'nın insan klinik örneklerinde de bulunduğu son

zamanlarda rapor edilmiştir (Mori ve ark 1989, Podschun ve Ullmann 1994, Podschun ve Ullmann 1992). Bu bulgulara göre *K. planticola*, *Klebsiella* türlerinin klinik izolatları arasında, % 3,5 ile % 18,5 arasındaki hayret verici yüksek sıklıkta, özellikle insan infeksiyonlarından izole edilmiştir. Bu izolatların yarısından fazlası solunum sistemi salgılarından, daha sonra en yaygın olarak yara ve idrar izolatlarından toplanmıştır (Podschun ve Ullmann 1994). Bununla birlikte izolatların çoğu polimikrobiyal örneklerden sağlandığı için, bu türlerin önemini hastalıklara sebep olan ajanlar olarak değerlendirmek güçtür. Yine de, 6 ile 94 arasında izolat monomikrobiyal örneklerden alınmıştır ve benzer infeksiyonlar saptanabilir. Bunun sonucu olarak, gelecekte *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'nın yanı sıra, insan infeksiyonuna yol açan üçüncü bir *Klebsiella* türünün bulunması muhtemel görünüyor.

ABD, Ørskov'un sınıflandırmasını tercih ederken, İngiltere ve diğer eski İngiliz sömürge ülkeleri Cowan'ın sınıflandırmasına sadık kalması, tutarlı bir numeklatörün benimsenmesini daha da zorlaştırmıştır. Bu nedenle, aynı bakteri bir ülkede *K. pneumoniae* olarak isimlendirilirken, diğer ülkede *K. aerogenes* olarak isimlendirilebiliyordu. Birçok Avrupa ülkesi Amerikan örneğini takip eder ve Ørskov'un dünya çapındaki üstün sınıflandırmasını tanır.

1.3. *Klebsiella* Türlerinin Farklılıkları

Klebsiella türleri genellikle biyokimyasal reaksiyonlarına göre identifiye ve diferensiye edilir. *Klebsiella* cinsi, *Enterobacteriaceae* familyasından, gram negative, hareketsiz, çoğunlukla kapsüllü, çubuk şeklinde, lizin dekarboksilaz üreten fakat ornitin dekarboksilaz üretmeyen ve genellikle Voges-Proskauer testi pozitif olan bir bakteridir (Edwards ve Ewing 1986). *Klebsiella* cinsi içinde Çizelge 1.2.'de listelenen özelliklere dayanarak, özel türler diferensiye edilebilir. Çoğu *Klebsiella* türü standart mikrobiyolojik laboratuvar testleriyle identifiye edilebilirken, *K. terrigena* ve *K. planticola* özel ve farklı reaksiyonlar (m-hidroksibenzoat veya hidroksi-L-prolinin kullanılması, pectate kullanımı, melezitozdan asit oluşumu veya 10 °C'de üremesi gibi) gerektirir.

Çizelge 1.2. *Klebsiella* türlerinin biyokimyasal reaksiyonları

Characteristic	<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>K. oxytoca</i>	<i>K. terrigena</i>	<i>K. planticola</i>	<i>K. ornithinolytica</i>
	subsp. <i>pneumoniae</i>	subsp. <i>ozaenae</i>	subsp. <i>rhinoscleromatis</i>				
Indole	–	–	–	+	–	v ^b	+
Ornithine decarboxylase	–	–	–	–	–	–	+
Lysine decarboxylase	+	v	–	+	+	+	+
Pectate degradation	–	–	–	+	–	–	–
Gas from lactose at 44.5°C	+	–	–	–	–	–	–
Growth at 10°C	–	–	–	+	+	+	+
Acid from:							
D-Melezitose	–	–	–	v	+	–	–
L-Sorbose	v			+	+	+	
Utilization of:							
<i>m</i> -Hydroxybenzoate	–	–	–	+	+	–	–
Hydroxy-L-proline	v			v	v	+	
Malonate	+	–	+	+	+	+	+
Methyl red test	–	+	+	–	+	v	+
Voges-Proskauer reaction	+	–	–	+	+	+	+

1.4. Klebsiella İzolatlarının Tiplendirilmesi

Epidemiyolojik noktadan bakıldığında, türlerin kolonizasyonunun belirlenmesi sıklıkla gerekmektedir. *Klebsiella* infeksiyonlarının endemik ve epidemik nozokomiyal salgınlarının kontrolünün geliştirilmesi için bu özellikle önemlidir. *Klebsiella* tiplendirmesinde değişik derecelerdeki başarı ile çeşitli metotlar kullanılmıştır.

1.4.1. Biyotiplendirme

Biyokimyasal ve kültür testlerine dayanan biyotiplendirme, epidemiyolojik olarak uygun donanıma sahip olmayan küçük laboratuvarlarda kuşkusuz en kullanılabilir tiplendirme yöntemidir. Biyotiplendirme tek başına makrotüp testlerini kullanarak (Haverkorn ve Michel 1979, Rennie ve Duncan 1974) veya ticari olarak bulunabilen makrotüp testlerine ek olarak API 20E sistemi gibi minyatürize sistemlerle birleştirilerek başarılabılır (Podschun ve ark 1986, Simoons-Smit ve ark 1985). Bununla birlikte, test edilen ve sıklıkla uzun kültür zamanı jelatinazın kullanımının gösterilmesi için 90 günden fazla (Stenzel ve ark 1972)- olan büyük sayıdaki reaksiyonlardan dolayı *Klebsiella* spp. biyotiplendirmesinin epidemiyolojik olarak kullanılması çok uygun değildir.

1.4.2. Serotiplendirme

Serotiplendirme *Klebsiella* tiplendirmesinde son dönemlerde en yaygın kullanılan tekniktir. Esas olarak kapsül antijenlerine göre bölümlenmesine dayanır (Ørskov ve ark 1984). *Klebsiella* genellikle kolonilerine karakteristik mukoid görünüm veren iyi gelişmiş polisakkarit kapsüllere sahiptir.

Tanımlanan 82 kapsül antijeninden, 77 tipi uluslararası tanımlanan kapsül antijen projesinin esasını oluşturur (Ørskov ve ark 1977). *Klebsiella*'nın 12 farklı O-antijen tipi tanımlandığı halde, sınıflandırmak zordur, çünkü bunların belirlenmesi ısıya dayanıklı kapsüller tarafından engellenir (Ørskov 1954). Kapsül tiplendirmesi, iyi tekrarlanabilirlik gösterir ve birçok klinik izolatin diferensiyasyonuna yardımcı olur (Ayling-Smith ve Pitt 1990). Bu metodun dezavantajı, 77 kapsül tipi arasındaki çok sayıda serolojik çapraz reaksiyon olmasıdır. Buna göre, her bir serum, çapraz-reaksiyon K-antijenleri ile absorbe edilmek zorundadır. Üstelik tiplendirme prosedüründe, testi yapmak için gereken süre fazladır, ayrıca yorumlaması her zaman kolay olmayan zayıf reaksiyonlar vardır ki bunlar subjektif yorumların etkisi altında kalır. Bu nedenlerle bu prosedür kullanışsızdır. Anti-kapsül antiserumu ticari olarak bulunamadığı için, bu teknik çoğunlukla uzmanlaşmış laboratuvarlar tarafından uygulanır. Yine de kapsül tiplendirmeye karşılık, ne biyokimyasal tiplendirme ile bakteriyosin tiplendirme, ne de faj tiplendirme tek başına yeterli fark gözeticidir ve epidemiyolojik amaçlar için belirli durumlar dışında tekrarlanabilir (Ørskov ve ark 1984). Biyotiplendirme ile kapsül tiplendirmenin birlikte kullanılması, çok sayıda biyoserotipin diferensiyasyonunu olanaklı kılar (Rennie ve Duncan 1974).

1.4.3. Faj Tiplendirme

Klebsiella'nın faj tiplendirmesi ilk olarak 1960'larda gelişmiştir (Przondo-Hessek 1966). Faj reaksiyonun kolayca yorumlanmasına ve metodun tekrarlanabilirliğinin uygun olmasına rağmen, bu teknik % 19 ile 67 oranlarında oldukça yetersiz tiplendirme gösterir (Rubin 1985, Slopek 1978). Kapsül tiplendirmesine alternatif olmadığı için, bu prosedür hiçbir zaman yaygın hale gelmemiştir ve serolojik testlerle birlikte kullanılan ikinci metod olamamıştır (Christensen ve Korner 1972, Coovadia ve ark 1992). Yine de birçok veride gösterildiği gibi eğer gerekli çaba harcanırsa, kapsül- ve O-antijen-spesifik faj tiplendirmenin geliştirilmesi mümkündür (McCallum ve ark 1989, Pieroni ve ark 1994).

1.4.4. Bakteriyosin Tiplendirme

Klebsiella için kapsül tiplendirme tercih edilen metot olsa da, kapsül tipinden bağımsız olarak daha kesin epidemiyolik analizlere imkan verdiğinden tavsiye edilmiştir. Çoğu yazar bakteriyosinler aracılığıyla *Klebsiella* tiplendirmesini önermektedir (Bauernfeind 1984, Buffenmeyer ve ark 1976, Edmondson ve Cooke 1979, Hall 1971). Bakteriyosinler, bakterisidal maddelerdir, çoğunlukla proteindirler ve bakteri tarafından üretilerek diğer bakterilerin üremesini engellerler. Genellikle aynı türün üyeleridirler. Bir izolat spesifik indikatör ya türleri inhibe etme yeteneğiyle ya da bir takım üretici türler tarafından sentezlenen bakteriyosinlere duyarlılığıyla tanımlanabilir.

Klebsiella'larda bakteriyosin sentezi yeterince yaygın olmadığından, son teknik cinse ait organizmaların bakteriyosin tiplendirmesinde tercih edilen metot olmuştur. Bununla birlikte başlıca iki erken metot olan besi yerinde üreme metodu (the growth-in-broth method) ve çapraz yol metodu (cross-streak method) önemli dezavantajlar gösterir. Bakteriyosin hazırlanmasındaki değişkenlikten dolayı, besi yerinde üreme metodunun tekrarlanabilirliği düşüktür. Üstelik geleneksel çapraz-yol metodu türlerde düşük tiplendirmeye sonuçlanır (Buffenmeyer ve ark 1976, Edmonson ve Cooke 1979, Hall 1971). Potansiyel olarak istikrarsız biriken bakteriyosinlerin kullanılmasını önleyen Scrape-and-point prosedürünün değiştirilmesiyle (Bauernfeind 1984), bu metodların her ikisindeki sınırlamaların üstesinden gelinmiştir. Onun yerine, bakteriyosinler agar besiyerinde, multipoint inokülatör ile aşıl原因an türlerin tiplendirilmesinden hemen önce sentezlenir. Bu metot, *Klebsiella* nozokomiyal salgınlarına (Bauernfeind ve ark 1993) ek olarak klinik ve çevresel *Klebsiella* türlerinin bakteriyosinlerinin tiplendirilmesinde üstün nitelikli bulunmuştur (Bauernfeind ve ark 1981, Podschun ve Ullmann 1993, Podschun ve Ullmann 1996).

1.4.5. Moleküler Tiplendirme

Moleküler tiplendirme metotlarının *Klebsiella* cinsine uygulanması hala başlangıçtadır. İlk tanımlamalar plazmid profilleri (Bauernfeind ve ark 1993, Bingen ve ark 1993, Coovadia ve ark 1992, Podschun ve ark 1986), ribotipler (Arlet ve ark 1994, Bingen ve ark 1993), multilokus enzim analizleri (Combe ve ark 1994, Nouvellon ve ark 1994) ve pulsed-field jel elektroforezisleri (Arlet ve ark 1994, Gouby ve ark 1994, Poh ve ark 1993) üzerine olmuştur. Laboratuardan laboratuara değişen prosedürler ve standardizasyon eksikliği bu metotların sonuçlarını karşılaştırmayı zorlaştırmaktadır.

1.5. Klebsiella Cinsinin Patojenite Faktörleri

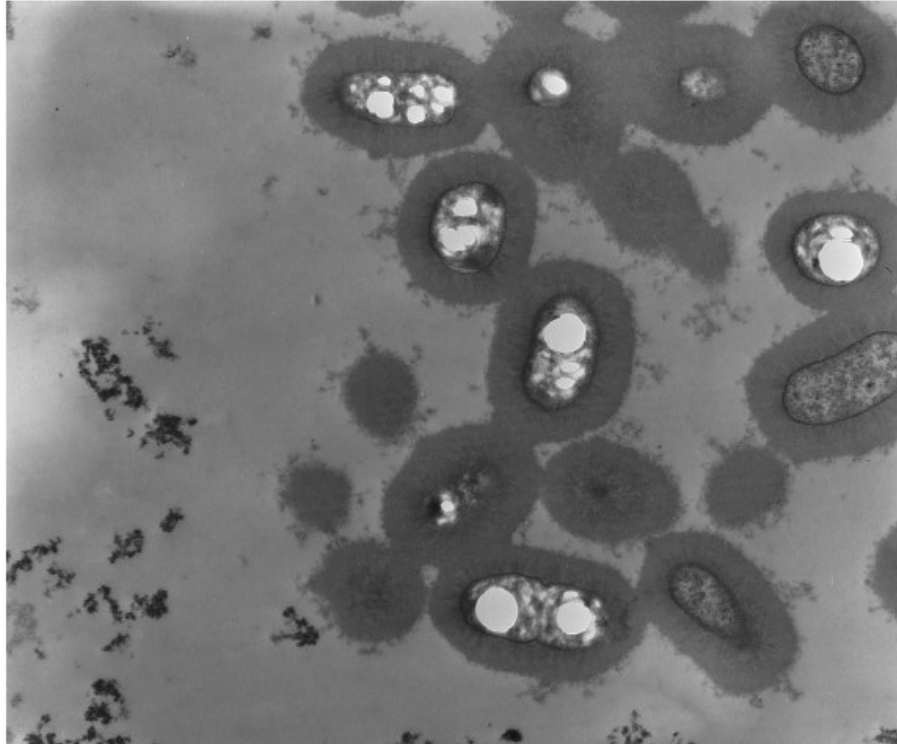
‘Patojenik faktör’ ve ‘virülens faktör’ terimleri bazı yazarlar tarafından eşanlamli olarak kullanılırken (Schaechter ve ark 1993), bazıları bunlar arasında kesin ayrımı vurgular. Bu gözden geçirmede, ‘virülens’ terimi bakteriyel türlerden birinin patojenite derecesini veya ölçüsünü tanımlarken, ‘patojenite’ terimi bakterinin hastalığa neden olma yeteneğini belirtir.

Nozokomiyal *Klebsiella* infeksiyonları en çok üriner sistem ve solunum sistemini kapsar. Bu iki vücut bölümü, konakçı savunma mekanizmalarına uymakta çok geçimsiz olduğundan, üriner sistem infeksiyonlarına neden olan *Klebsiella* türlerinde bulunan virülens faktörlerinin gidişatının, pnömonili hastaların akciğerlerinden izole edilen türlerde gözlenenden farklı olmaları beklenilebilir.

Klebsiella infeksiyonlarının patojenik mekanizmaları için yapılan araştırma, bu bakterilerin patojenitelerine neden olan çok sayıda bakteriyel faktör identifiye etmiştir. İn-vitro ve in-vivo örneklerin her ikisi, bakteriyel hücreler ve konakçı etkileşimlerinin araştırılması için saptanmıştır. Hayvan örneklerinin kullanımı, in-vitro çalışmalardan elde edilemeyen çok önemli bilgiler sağlayarak, *Klebsiella* patojenite çalışmalarında kritik öge olmuştur. Özellikle hayvan modelleri, ÜSİ *Klebsiella* virülens faktörlerini çalışmak için onaylanmıştır; fareler ve ratlar uygun hayvan tipleri olarak görülmüştür. Alt üriner sistem infeksiyonları, diürezisli fare veya organizmaların idrar kesesi içine enjeksiyonuyla oluşturulan sistitisli rat örneklerinde incelenmiştir (Fader ve Davis 1980, Mayan ve ark 1985). *Klebsiella* kaynaklı üst ÜSİ çalışmak için, deneysel retrograd piyelitli rat örneği meydana getirilmiştir (Fader ve Davis 1982). Her iki örnekte idrar veya renal pelvis yüzeyi elektron mikroskopta incelenmiştir.

1.5.1. Kapsüler Antijenler

Yukarıda söz edildiği gibi, *Klebsiellae* genellikle kompleks asidik polisakkaritten oluşan belirgin kapsüller geliştirir. Kapsüller alt ünitelerin tekrarlaması, dört ile altı arasında şeker ve çok sık olarak üronik asitten ibarettir ve 77 serolojik tipte sınıflandırılabilir (Ørskov ve ark 1984). Kapsüller, *Klebsiella*'nın asıl virülensidir (Cryz ve ark 1984, Domenico ve ark 1982, Ehrenwort ve Baer 1956, Highsmith ve Jarvis 1985). Kapsüller materyal, bakteriyel yüzeyi iri tabakalarla örten fibriler yapıların kalın bağlarıyla şekillendirir (Şekil 6.1.1.) (Amako ve ark 1988). Bu da bakteriyi, bir taraftan polimorfonükleer granüositlerin yaptığı fagositten korurken (Podschun ve ark 1992, Podschun ve Ullmann 1992), diğer taraftan bakterisidal serum faktörleri tarafından ölmesini engeller (Williams ve ark 1983). Moleküler mekanizmayı muhtemelen, aktivasyonun inhibisyonu veya komplement bileşenlerin, özellikle C3b'nin kaldırılması oluşturur (Williams ve Tomas 1990). Antifagositik fonksiyonlarından başka, *Klebsiella* kapsül polisakkaritlerinin, in vitro olarak makrofajların diferensiyasyon ve fonksiyonel kapasitelerini engellediği rapor edilmiştir (Yokochi ve ark 1977, Yokochi ve ark 1979). Ayrıca, *Klebsiella* kapsüler polisakkaritinin büyük dozlardaki infeksiyonu, immunolojik paralizlere bile neden olabilir. Bu durum farelerde kanıtlanmıştır ve spesifik kapsüler antijenlere karşı oluşan antikorlar doza bağlı olarak azalma göstermiştir (Batshon ve ark 1963).



Şekil 1.1. Fibrilöz kapsüler maddenin kalın tabakaları tarafından çevrelenen *K. pneumoniae* hücrelerinin transmisyon elektron mikrofrafisi

Klebsiella kapsüler polisakkaritlerinin genellikle virülens özelliklerine aracılık ettiği düşünülmüştür. Bu düşünce, farklı kapsüler tipler arasındaki büyük virülens farklılıklar nedeniyle son zamanlarda bırakılmıştır: başka serotiplerin izolatları az veya virülenssizken, K1 ve K2 kapsül antijenlerini belirten türler, peritonitli farede özellikle virulent bulunmuştur (Kauffmann 1949, Mizuta ve ark 1983). Deneysel olarak farelerde deri lezyonlarına neden olan, *Klebsiella* türlerinin K1, K2, K4 ve K5 serotipleri, belirtilen diğer kapsül tiplerinden daha virulent olduğu bildirilmektedir (Simoons-Smit ve ark 1984).

Belirli bir K antijeni tarafından verilen virülens derecesi, mannoz içeren kapsüler polisakkaritlere bağlanabilir. K7 veya K21a antijenleri gibi düşük virülensli kapsüler tipler (Ofek ve ark 1993, Podschun ve Ullmann 1992), defalarca tekrarlanmış mannoz veya L-ramnoz zincirleri içerir. Bu zincirler, lektinofagosit olarak bilinen opsonin-bağımsız (örn., komplement ve antikor-bağımsız) fagositlere aracılık eden makrofajların yüzey lektinleri tarafından tanımlanmıştır (Athamna ve ark 1991). Lektinofagositler, bir hücredeki yüzey lektinleri ile karşı hücrenin yüzey karbonhidratları arasındaki ilişkiye dayanan nonopsonik fagositler olarak belirtilmiştir (Ofek ve ark 1995). Lektinofagositlere, fimbria gibi bakteriyel yüzey lektinleri veya reseptör gibi davranan fagosit lektinlerinden biri tarafından aracılık edilir. Mannoz-a-2/3-mannoz-spesifik lektinli veya mannoz reseptörünü tanıyan makrofajlar, tekrarlayan zincirlerdeki Man a2/3 Man veya L-Ra2/3L-Ra kapsüler polisakkariti içeren *Klebsiella* serotiplerini sindirir ve ardından öldürür. Buna karşılık, tekrarlayan zincirlerden yoksun olan türler makrofajlar tarafından tanımlanamaz ve bu nedenle fagositoz gerçekleşmez. Bu model, mannoz-a-2/3-mannoz yapısından tamamen yoksun olan K2'nin göze çarpan virülensiyle uygundur (Kabha ve ark 1995, Ofek ve ark 1993). Buna göre, bu mannoz veya ramnoz zincirlerinden yoksun olan kapsül tiplerini taşıyan *Klebsiella* türleri infeksiyöz hastalıklarla daha yakın ilişkilidir.

Her bir *Klebsiella* serotipi ile klinik semptomlar arasındaki ilişkiyi kurmak için yapılan önceki araştırmalar, çok çelişkili sonuçlar doğurmuştur. Her çalışma, farklı kapsüler tipleri predominant olarak tanımlamıştır (Podschun ve ark 1986, Rennie ve Duncan 1974, Simoons-Smit ve ark 1985). Serotiplerdeki coğrafi farklılıkların bu karışıklıkta payı olabilir. Pek çok çalışma bununla aynı fikirdedir, yine de K2 serotipi, ÜSİ, pnömoni veya bakteremili hastalardan izole edilen en yaygın kapsül tipleri arasındadır. Çevrede az rastlandığı halde,

dünyanın her yerinde insanlardan izole edilen serotipler arasında K2, predominant kabul edilebilir (Brown ve Seidler 1973, Edmondson ve ark 1980, Matsen ve ark 1974). Böylece *Klebsiella* infeksiyonlarında K2 serotiplerinin gözlenen predominansı, lektinofagositozis kavramıyla oldukça uyumludur. Konakçının doğal immun mekanizması, mikroorganizmalar üzerinde bulunan yapılarla birbirini etkilediği için, bu gibi yapıları taşımayan K2 tipi gibi belirli *Klebsiella* serotipleri seçilmiş hale gelir.

1.5.2. Pilus (Fimbria)

İnfeksiyon oluşumundaki ilk kritik basamak olarak, mikroorganizmalar konakçının mukozal yüzeylerinde olabildiğince yaklaşmalıdır ve konakçı hücrelerine yapışarak (adezyon) bu yakınlığı sürdürmelidir. *Enterobacteriaceae*'daki adhezif özellik genellikle farklı pilus tipleri tarafından sağlanır. Bu yapılar 10 µm uzunluğunda ve 1 ile 11 nm çapındadır (Ofek ve Doyle 1994); 15 ile 26 kDa arasında moleküler kütleli polimerik globüler protein alt ünitelerinden (pilin) oluşur (Jones ve Isaacson 1983).

Piluslar esas olarak, farklı hayvan türlerinde eritrositleri aglutine etme yeteneklerine dayanılarak gösterilmiştir. Reaksiyonun D-mannoz tarafından inhibe edilip edilmediğine bağlı olarak, bu adezinler mannoz-duyarlı veya mannoz-dirençli hemagglutininler (MSHA ve MRHA) olarak adlandırılır (Ottow 1975). *Enterobacteria*'da tanımlanan farklı tiplerdeki piluslardan iki predominant tipi *Klebsiella spp.*'de bulunur (Old ve ark 1985, Podschun ve ark 1987).

1.5.2.1. Tip 1 pilus

Tip 1 pilus, bakteriyel adhezinlerden en iyi araştırılanıdır. Tip 1 pilus, kobay eritrositleri aglutine eden MSHA'lardır. Bu pilus tipindeki adezyon proteini, fimbrial ışın üzerine yerleşir ve konakçı glikoproteinlerinin mannoz içeren trisakkaritlerine bağlanmaya yatkındır (Babu ve ark 1986, Firon ve ark 1984). Şeker yapıları tahminen, N-glikozidik bağlantılar aracılığıyla glikoproteinlere bağlanan oligomannoz zincirlerinden oluşur (Sharon ve Ofek 1986). Bu pilusların bakteriyel virülensle ilgisi esas olarak, bakterileri ürogenital, solunum ve intestinal sistemlerin mukus veya epitelyal hücrelerine bağlayıcılığından ötürü ortaya çıktığı düşünülmüştür (Balish ve ark 1982, Ofek ve Beachey 1978). ÜSİ'nun patojenezindeki rolleri, çoğunlukla *E. coli* üzerine yapılan çalışmalarla aydınlatılmıştır. Fakat hayvan örneklerinde *K. pneumoniae* için tanımlanmıştır (Fader ve Davis 1982, Mayan ve ark

1985). Öncelikle alt ÜSİ'nın patojeneziyle (Iwahi ve ark 1983) ilişkilendirildiği halde tip 1 pilusu, piyelonefritis patojenezisini de kapsayabilir (Fader ve Davis 1982). Buna göre, bu yapıların proksimal tubülüs hücrelerine bağlandığı gösterilmiştir (Virkola ve ark 1988). Tip 1 fimbrialar, Tamm-Horsfall proteini(Reinhardt ve ark 1990) veya salyadaki (Babu ve ark 1986) gibi çözünür mannoz içeren idrardaki glikoproteine bağlayıcı yetenehtedir. Bu bulgular tip 1 pilusun, solunum sistemi ve ürogenital sistemindeki bakteriyel kolonizasyona aracılık etmesinden dolayı bir açıklama sağlamaktadır (Clegg ve Gerlach 1987). Bakterinin solunum sistemi hücrelerine tutunması (Ayars ve ark 1982), fakültatif patojenik bakterilerin sonradan ortaya çıkan proliferasyonu ile üst solunum yollarındaki kolonizasyon direncinin zayıflamasına öncülük eder. Bu zayıflama, özellikle uzun mekanik solunum yapan hastalarda pnömoni gelişimiyle sonuçlanabilir (Williams ve Tomas 1990).

Tip 1 pilusun patojenik rolünün tahmininde, 'varyasyon evresi' olgusu hesaba katılmak zorundadır. Yukarıda bahsedildiği gibi bu adezin tipi, konakçı mukozal yüzeylerine daha çok nonspesifik bağlayıcılar yoluyla aracılık eder. Patojenik mikroorganizmalarda muköz membran kolonizasyonunu, infeksiyöz patojenlerin bunu izleyen olaylarının tümü ile altta yatan dokunun invazyonunu takip eder.

Bakteri ve lökosit ayıran yapılar, bu pilusların hidrofilik karakterleri tarafından zayıflatılır (Öhman ve ark 1985), böylece adezinlerin lökosit yüzeyindeki spesifik mannoz içeren reseptörlere tutunmasını olanaklı kılar (Rodriguez-Ortega ve ark 1987). Adezin tutunması, lökositlerin stimülasyonunu başlatır (Mangan ve Snyder 1979), bu da bakterinin fagositozu ve intrasellüler ölümü ile sonuçlanır (Lock ve ark 1990). Bakteri, konakçı savunmasının bu şekline, dokudaki tip 1 pilus ekspresyonunu durdurarak karşılık verir (Maayan ve ark 1985). Böylece, konakçı kolonizasyonu için tip 1 pilusları önemliken, bunların patojenezisin sonraki basamaklarına katkısı çok açık değildir.

1.5.2.2. Tip 3 pilus

Diğer fimbriyalardan farklı olarak tip 3 pilusu sadece tanen ile işlem görmüş eritrositleri aglutine eder. Mannoza dirençli, *Klebsiella*-benzeri hemagglutinasyon (MR/K-HA) adı, bu fimbrial tipin sadece *Klebsiella* tarafından sentezlendiği anlamına gelse de, sonraki çalışmalar tip 3 pilusun birçok enterik genusta bulunduğunu göstermiştir (Clegg ve Gerlach 1987). Üstelik serolojik çalışmalar önemli antijenik farklılıklar gösterdiği için, tip 3 pilus anlaşılan *Enterobacteria*'nın her genusunda benzer değildir (Old ve Adegbola 1985).

Tip 3 pilus salgılayan *K. pneumoniae* türleri, endotelial hücrelere, solunum sisteminin epiteline ve üroepitelyal hücrelere yapışır (Hornick ve ark 1992). Böbreklerde bu piluslar, tubüler bazal membranlar, Bowman kapsülleri ve renal kanallara bakterinin yapışmasını sağlar (Tarkanken ve ark 1990). Tannik asitli eritrositlere tutunma, idrarda salgının bir poliamin olan spermidin tarafından inhibe edilir (Gerlach ve ark 1989). Spermidin, hasarlı eritrosit yüzeyinden açığa çıkarıldığı için, MR/K hemaglutinasyonun spermidin tarafından sağlandığı ileri sürülmüştür (Gerlach ve ark 1989). Bu, tip 3 pilusun neden tannik asit veya ısı ile muamele edilmeyen eritrositlere değil de, bunlarla muamele edilmiş eritrositlere tutunduğunu açıklayabilir.

Bu fimbrial tipin patojenetik süreçteki rolü büyük ölçüde bilinmemektedir. Günümüze kadar, tip 3 MrkD hemaglutinin ve hastalık arasındaki ilişkinin tek ispatı, kateter kaynaklı bakteriüride bulunan *Providencia stuartii*'de, tip 3 pilusun ekspresyonunun gözlenmesi olmuştur (Mobley ve ark 1988). Bu türler, kısa dönem kateterize edilen veya kateterize edilmeyen kişilerde ÜSİ'nın yaygın sebebi değildir, fakat uzun dönem kateterli hastaların idrarında daha yüksek prevalanstadırlar. Bu pilusların infeksiyonlardaki rolünü araştırmak amacıyla hiçbir deneysel hayvan modeli kullanılmamıştır. Uygun konakçı reseptörlerinin yapısı bilinmemektedir.

Klebsiella adezinlerinin üç yeni tipi son zamanlarda rapor edilmiştir. *K. pneumoniae*'nin R-plazmid-encoded adezininin, insan intestinal hücre hatlarına İntestin-407 ve CaCo-2 'ye yapışmalarına aracılık ettiği gösterilmiştir (Darfeuille-Michaud ve ark 1992). Bu adezin tipi insan diareal *E. coli* türlerinin CS31-A adezin proteinlerine benzer gibi görülür (Di Martino ve ark 1995) ve K88 adezin familyasına aittir. Mevcut bilgi CF29K'nın muhtemelen, insan bağırsağındaki *E. coli*'den *K. pneumoniae* türlerine CS31A genetik determinantlarının transfer ürünü olduğunu işaret eder.

1.5.3. Serum Direnci ve Lipopolisakkarit

Hücum eden mikroorganizmalara karşı, konakçı savunmasında ilk sırayı polimorf granülositler tarafından yapılan fagositozun yanı sıra serumun bakterisidal etkisi alır. Serum bakterisidal aktivitesi öncelikle komplement proteinleri tarafından sağlanır. Komplement proteinlerinin aktivasyonlarından sonra, bu proteinler mikroorganizmanın yüzeyinde membran atak kompleksi şeklinde toplanır (Taylor 1983). Bu kompleks, C5b-C9 terminal

komplement proteinlerinden oluşur ve bunlar gram-negatif bakterinin dış membranında transmembranöz gözenek oluştururlar (Ramm ve ark 1983). Membran atak kompleksi, sodyumun içeri girmesine ve bakterinin ozmotik lizisine yardım eder (Taylor ve Kroll 1985). Komplement iki mekanizma ile aktive edilebilir: aktive olmak için tipik olarak spesifik antikorlar gerektiren klasik komplement yolu ve antikorların yokluğunda bile aktive olabilen alternatif komplement yolu. Alternatif yol, doğal bağışıklığın erken savunma sistemi gibi de görülür ve daha spesifik antikorlar şekillenmeden hücum eden mikroorganizmalara konakçının karşılık vermesini olanaklı kılar (Joiner 1988). Her iki komplement yolu, C3 aktivasyonu aracılığı ile en sonunda terminal C5b-C9 kompleksinin oluşmasıyla sonuçlanan ve böylece savunma sisteminde anahtar rolü oynayan opsonin C3b'nin oluşmasına rehberlik eder.

Bu konakçı savunması karşılığında, patojenik mikroorganizmalar serum bakterisidal etkisine karşı stratejiler geliştirmiştir. Patojenik türler çoğu kez serum dirençli nitelikler gösterirken, birçok kommensal gram-negatif bakteri insan serumunun bakterisidal etkisine duyarlıdır (Olling 1977). Bu sonuca göre, klinik olarak izole edilen *Enterobacterler* çoğu kez seruma direnç gösterir (Vosti ve Randall 1970) ve 'serum dirençlilik' özelliği, enfeksiyonun başlangıcı (Olling 1977, Roantree ve Rantz 1960) ve semptomların şiddeti ile ilişkilendirilmiştir (Björkstén ve Kaijser 1978, Gower ve ark 1972).

Bugüne kadar, bakteriyel serum direncinin temelindeki tam mekanizma öğrenilememiştir. Dış membranın, TraT lipoprotein veya porinler gibi çeşitli proteinlerinden başka (Alberti ve ark 1993), esas olarak CPS ve O antijenleri (lipopolisakkaritler[LPS]) de bakteriyel serum direncine dahil edilmiştir (Ciurana ve Tomas 1987, Opal ve ark 1982, Williams ve ark 1983). *Klebsiella* için, iki hipotez ortaya atılmaktadır (Merino ve ark 1992). Birincisi, kapsül polisakkaritleri, temeldeki LPS'yi kaplayıp maskeleyebilir ve komplementi aktive etmeyen bir yüzey yapısını sergileyebilir. Diğer taraftan, LPS'nin O kenar zincirleri, belirli *Klebsiella* kapsül tiplerinde kapsül tabakası arasından uzanabilir ve dış ortama çıkarılabilir (Tomas ve ark 1988). LPS genellikle komplementi aktive edebildiğinden, C3b molekülü LPS molekülleri üzerine depolanır. Bununla birlikte, uzun O-polisakkarit kenarlı zincirlere öncelikli olarak bağlandığından, C3b bakteriyel hücre membranından çok uzaktadır. Bu nedenle, litik membran atak kompleksinin (C5b-C9) oluşumu engellenir ve sonraki membran hasarı ve hücre ölümü meydana gelmez.

Litik komplement faaliyetine LPS tarafından yapılan sterik engelin yanı sıra, depolanmış C3b miktarı da serum direncinin derecesini gösterir (Alberti ve ark 1996). Serum-duyarlı türler klasik ve alternatif komplement yollarının her ikisini de aktive ederken, serum-dirençli türlerin düz LPS'i yalnızca alternatif yolu aktive eder. Serum-duyarlı türler tarafından her iki komplement yolunun aktivasyonu, büyük hasar ve bakteriyel ölüm ile sonuçlanan yüksek seviyelerde C3b'nin depolanmasına öncülük eder. Bu alanda yapılan önceki çalışmaların tümünün, O1 serotipini açığa vuran türlerle yapıldığı yine de unutulmamalıdır. Her ne kadar O1, klinik *Klebsiella* izolasyonları arasında en yaygın bulunan O antijeni olsa da, farklı O serotipleri içinden birçoğunun nötral polisakkarit olduğu bilinmektedir. Aslında kimyasal olarak 12 farklı O tipi vardır, fakat yapısal araştırmaların sonuçları *Klebsiella* O antijenlerinin sayısını sonradan 8'e düşürmüştür (Mizuta ve ark 1983). Bugüne kadar, serum direncinin sadece O1 antijeni tarafından sağlanıp sağlanmadığı ya da bu özelliğin genellikle *Klebsiella* LPS'si tarafından verilip verilmediği açığa kavuşmamıştır.

Son zamanlarda, farklı osmotik koşulların LPS üzerindeki etkisi *Aeromonas hydrophila* O:34 serotipinde gösterildi (Aguilar ve ark 1997); düşük ozmolaritede büyüyenler pürüzlü LPS ile sonuçlanırken, yüksek ozmolaritede büyümüş hücreler düzgün LPS gösterdi. Benzer olarak, düşük ozmolaritede büyümüş bakteriler serum duyarlı çıkarken, yüksek ozmolaritede kültüre edilen hücreler normal insan serumuna dirençliydi. Bu nedenle aynı bakteri türü, konakçı vücudunun üriner sistem gibi yüksek ozmolariteli ortamında bulunduğu seruma dirençli olabilirken, solunum sistemi gibi düşük ozmolariteli vücut bölgesinde bulunduğu seruma duyarlı olabilmektedir.

1.5.4. Sideroforlar

Konakçı dokusunda bakterinin gelişimi sadece konakçı savunma mekanizmalarıyla kısıtlanmamıştır, mevcut demirin teminiyle de kısıtlanmıştır. Demir, bakteriyel gelişimin esas etkenidir, oksijen ve elektron transport işlemindeki proteinlerin bulunmasında redoks katalizörü gibi görev yapar (Griffiths 1987). Konakçı ortamındaki bakteri için kullanılabilir serbest demirin temini son derece azdır. Çünkü bu element, intrasellüler olarak hemoglobin, ferritin, hemosiderin ve miyoglobin gibi proteinleri, ekstrasellüler olarak ise laktoferrin ve transferin gibi yüksek affinitedeki demir bağlayıcı proteinleri kuşatır. Serbest biyoyararlı demirin seviyesi (10^{-18} M), normal bakteriyel gelişim için çok düşüktür (Bullen ve ark 1978). Enfeksiyon patojenlerinin konakçı vücudunda demir temininin belirgin etkisi *Klebsiella* için

gösterilmiştir. Kobayda demirin parenteral verilmesinden sonra, *Klebsiella* infeksiyonlarına olan duyarlılık önemli ölçüde artmıştır (Khimji ve Miles 1978).

Birçok bakteri konakçıda demir teminini siderefor denilen yüksek affiniteli düşük moleküler ağırlıktaki demir kelatörlerini salgılayarak sağlamaya çalışır, bu sideroforlar rekabet edecek şekilde konakçı proteinlerine sarılmış demiri alma yeteneğindedir (Griffiths ve ark 1988). Demir yetersizliği koşulu altında, örneğin konakçı ortamında, *Enterobacteria* iki farklı kimyasal gruba ait olan çeşitli sideroforlar sentezler, biri fenolat tipi siderofordan oluşur, diğeri ise hidroksammat tipi siderofordan oluşur.

En çok rastlanılan grup fenolat tipi sideroforlardır. En iyi bilinen temsilcileri olan enterobaktin, 2,3-dihidroksil-benzol-serin'in periyodik trimeridir. Bu siderofor, *Enterobacteria*'nın ana demir yükseltme sistemini kapsar gibi görünür ve hemen hemen *E. coli* ve *Salmonella* spp.'in bütün klinik izolatlarından sentezlenir (Griffiths 1987). Enterobaktinin virülense katkısı üzerine yapılan çalışmalar birbirine zıt sonuçlar çıkarmıştır. Örneğin, Benjamin ve arkadaşları (Benjamin ve ark 1985) virülens ile enterobaktin sentezleme yeteneği arasında bir ilişki bulamazken, Yancey ve ekibi (Yancey ve ark 1979) bu sideroforu üretemeyen *Salmonella typhimurium* mutantlarının farede daha az virulent olduğunu rapor etmiştir. Bu güne kadar, enterobaktinin virülensteki rolü şüpheli kalmıştır.

Hidroksammat tipi sideroforlar arasından, ferrikromes (sadece mantarlar tarafından sentezlenir), ferrioksamines ve aerobaktin en önemlileridir. Enterobaktine karşılık, aerobaktinin bakteriyel virulense katkısı açık bir biçimde gösterilmiştir (de Lorenzo ve Martinez 1988). Ferik enterobaktinin termodinamik denge sabitliği, Fe(III) için ferik aerobaktinde olandan daha yüksek affinite gösterirken, büyük stabilitesi ve daha iyi çözünabilirliğinden dolayı aerobaktin yine de enterobaktinden daha etkili gibi görünür (Wooldridge ve Williams 1993). Üstelik enterobaktin, demir dağıtımından sonra bir esteraz tarafından hidrolize edilirken, aerobaktin her demir transport döngüsünden sonra tekrar işleyebilir hale gelir.

Martinez ve arkadaşlarının incelemesi (Martinez ve ark 1987), enterobakterisiyal cinslerin aerobaktin sentezi oranlarına göre iki gruba ayrılabilirdiğini gösterir. Düşük oranda (<20%) aerobaktin üreten türlerin grubu *Serratia*, *Proteus* ve *Salmonella* gibi cinslerden

oluşur. *Escherichia* cinsini içeren ikinci grup yüksek oranda (>%40) aerobaktin sentezi gösterir.

Klebsiella cinsinde, sadece enterobaktinin değil, aerobaktinin de üretimi gösterilmiştir. Yine de, enterobaktin hemen hemen her tür tarafından sentezlenirken (Podschun ve ark 1992, Reissbrodt ve Rabsch 1988), aerobaktin-pozitif *Klebsiella* türleri, türlere veya izolasyon kaynağına bakmaksızın nadiren gözlenmiştir (Martinez ve ark 1987, Podschun ve ark 1992). Hayvan örneklerindeki enterobaktin pozitif *Klebsiella* türleri, enterobaktin pozitif türlerden daha virulent değildi (Miles ve Khimji 1975). Buna karşılık, *Klebsiella* türlerindeki aerobaktin sentezi ile virülens arasındaki ilişki Nassif ve Sansonetti tarafından net bir biçimde gösterilmiştir (Nassif ve Sansonetti 1986). Bu çalışmada, aerobaktin geni K1 ve K2 serotipli bazı *K. pneumoniae* türlerinin plazmidlerinden klonlanmış ve nonvirulent (siderofor negatif) bir türe aktarılmıştır. Aktarma daha sonra, fare peritonitis örneğinde belirgin şekilde artan bir virülens sergilemiştir.

Enterobaktin üretiminde türlerin yaygın yeteneğinden ötürü, zaten enterobaktin sentezleyen bakterinin aerobaktinden ne gibi ek avantaj elde edeceği uzun süreden beri düşünülmektedir. Enterobaktinin aerobaktin üzerindeki büyük üstünlüğü ferik demir kelatörü için şimdiye kadar rapor edilen en yüksek demir affinitesidir. pH 7.4'te ferik enterobaktin için sabit oluşum 10^{52} dir (Griffiths 1987). Enterobaktine karşılık aerobaktin, ferik demir için çok düşük affiniteye olmasından ötürü, transferine bağlı demir için etkili bir rakip değildir. Hakikaten araştırmalar, aerobaktinin demir kaynağı konakçı hücreleri iken, enterobaktinin demiri baskın olarak transferrinden ayırdığını göstermiştir (Brock ve ark 1991). Buna göre bu iki sideroforun ürünleri, konakçıda çoğalan üremeyle sonuçlanır.

Aerobaktin üreten *Klebsiella* oranı üzerine olan veriler, bu sideroforun *Klebsiella* cinsinin patojenitesinde ana rolü oynamadığını gösterir. Buna rağmen aerobaktin sentezlemeyen klinik *K. pneumoniae* izolatlarının ekzojen olarak ortaya çıkarılmış aerobaktinleri onların tek demir kaynağı gibi tümüyle kullanma yetenekleri gösterilmelidir (Williams ve ark 1989).

Birçok *Enterobakteri* türünde olduğu gibi ve özellikle *E. coli*'de iyi araştırıldığı gibi, diğer faktörler *Klebsiella* spp.'de de saptanmıştır. Sistosin (Higaki ve ark 1990, Koo ve Stein 1986), enterotoksin (Guarino ve ark 1989, Minami ve ark 1994) ve hemolizinlerin (Barberis

ve ark 1986) üretimi sporadik olarak tanımlanmasına karşın, bu özellikler muhtemelen *Klebsiella*'da oldukça minör rol oynar.

1.6. Aşı Geliştirme Çalışmaları

Birçok *Klebsiella* enfeksiyonuna hastanede kalınan sürede yakalanılır ve tüm nozokomiyal enfeksiyonlar arasında görülme olasılığı % 5-7,5 arasındadır. Bakteriyemi ve pnömoni gibi şiddetli sistemik enfeksiyonların morbidite ve mortalitesi, uygun antibiyotik kullanılmasına rağmen yüksek kalır. Ölüm oranı *Klebsiella*'dan kaynaklanan bakteremide % 20-50 arasında ve yine *Klebsiella*'dan kaynaklanan pnömonide % 50'den fazladır (Bryan ve ark 1983, de la Torre ve ark 1985). Ayrıca *Klebsiella* enfeksiyonları pediatrik bölümlerde büyük tehdit haline gelmiştir. *Klebsiella* yeni doğan bebeklerin korunma ünitelerinde en çok görülen üç ya da dört patojenden biridir (Hart 1993). Özellikle neonatal yoğun bakım ünitelerindeki prematüre doğan bebeklerde, diğer bebeklere oranla *Klebsiella* spp.'in yaygın olduğu bir intestinal flora oluşturması daha olasıydı. Bu bulgular, GSBL üreten multiresistant soyların ortaya çıkması ile birlikte, *Klebsiella* enfeksiyonlarının immunolojik kontrolü için bir yöntem gereksinim olduğunu göstermektedir. Bu önlemler immunoproflaksi amaçlı aşılama (risk altındakilere yapılan aktif aşı) ek olarak immunterapi amaçlı aşılama (hiperimmun serum ile yapılan pasif aşılama) içerir.

Klebsiella'ya karşı kullanılan aşılar da çeşitli hücre bileşenleri arasında iki yüzey parçasının çok önemi vardır: LPS ve CPS.

1.6.1. Lipopolisakkaritler

LPS endotoksik özelliğinden dolayı, sepsisemi patolojisinde önemle ele alınır. Yakın zamana kadar *Klebsiella* LPS O antijenlerinin, kapsül polisakkaritleri tarafından gizlendiği düşünülmekteydi. LPS'ler yüzeyde açığa çıkmamakta, bu da onu uygun olmayan aşı adayı olarak ayırmaktadır. Son çalışmalar, belirli kapsüller serotipleri tanımlayan türlerde, O antijenlerinin yüzey açıklığını göstermektedir (Tomas ve ark 1988). Az sayıdaki farklı *Klebsiella* O-tipi, aşı olarak uygulanabilirliği ile ilgili olarak büyük avantajdır. K antijenlerine karşılık sadece sekiz O tipi bilinmektedir, O1 klinik izolatlarda en yaygın bulunan O tipidir. Bu sekiz O antijeninden oluşan multivalent LPS aşısı veya geniş spektrum kapsüller polisakkarit aşısında yaygın O1 antijenlerinin bulunması ümit verici bir yaklaşım olabilir. Son zamanlarda, *Klebsiella* O1 antijenlerine karşı monoklonal antikorlar verilmesinin, letal

endotoksemili farelerde koruyucu olduğu bildirilmiştir (Mandine ve ark 1990). Ayrıca, bir multivalent *Klebsiella* aşı formülasyonunda O antijenlerinin bulunması, *Klebsiella* O3 lipopolisakkaritleri için gösterildiği gibi, güçlü adjuvant etkisinden ötürü ek avantaj olabilir (Yokochi ve ark 1995). LPS içeren aşılar ile aktif immunizasyonun büyük dezavantajı, endotoksin içeriğinden dolayı sanılan ters toksik reaksiyonlardır. Böylece, O antijeninden oluşan her *Klebsiella* aşısı LPS'in yeterli detoksifikasyonu ile güvenli kılınmalıdır.

1.6.2. Kapsüler polisakkaritler

Kapsüler polisakkaritler (CPS) belli aşı adaylarıdır. Kapsüller hemen hemen bütün *Klebsiella* türleri tarafından üretilmektedir; konakçı ortamı ile temaslarında yüzey yapılarının en dış katmanını gösterirler ve bunların immunojenik ve nontoksik oldukları ispatlanmıştır (Cryz ve ark 1985). *Klebsiella* CPS aşısının ciddi bir dezavantajı yüksek sayıdaki K antijenleridir (77 farklı antijen). Bununla birlikte, bakteremik *Klebsiella* izolatları arasında kapsül tiplerinin oranı ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada Cryz ve arkadaşları tüm bakteremik türlerin %70'ini yalnız 25 serotipin oluşturduğunu bulmuştur (Cryz ve ark 1986). Bunların seroepidemiyojik bulgularına dayanarak, daha sonra güvenli ve immunojenik olduğu ispatlanan bir 24-valent *Klebsiella* CPS aşısı formüle etmişlerdir (Cryz ve ark 1986). Bu aşı, *Klebsiella*'nın neden olduğu sepsisi önlemek için en ümit verici yaklaşım olarak görölmektedir ve faz I insan denemelerinden bile geçmektedir (Edelman ve ark 1994). 24-valent *Klebsiella* aşısı için yapılan en son çalışma, akut olarak küt veya keskin travmalı hastalarda aktif immunizasyondan sonra mükemmel antikor yanıt gösterdiği bildirilmektedir (Campbell ve ark 1996).

1.7. Veteriner Hekimlikte *Klebsiella* İnfeksiyonları

Klebsiella türleri geniş alanda enfeksiyonlara neden olan oportunistik patojenlerdir. ABD ve Avrupa'da tüm nozokomiyal bakteriyel enfeksiyonların % 8'ini oluşturuyorlar. En sık olarak, *Klebsiella* türleri üriner sistem enfeksiyonları, pnömoni, bakteremi, neonatal sepsis ve yara enfeksiyonlarına neden olan ajanlar olarak izole edilmektedir. Bu enfeksiyonlardaki en önemli organizma *K. pneumoniae*'dir ve onu *K. oxytoca* takip eder. Bu türlerin neden olduğu hastalıklara karşılık, *K. ozaenae* ve *K. rhinoscleromatis*'den dolayı olan enfeksiyonlar belirli vücut kısımlarıyla sınırlandı ve birçok durumda sadece insan burnunu etkiledi. *K. ozaenae*, ozena denen bir atrofik rinit sebebidir fakat bu organizmadan kaynaklanan diğer sporadik enfeksiyonlar da bilinmektedir. *K. rhinoscleromatis*, rinosklerom olarak adlandırılan,

çeşitli ülkelerde endemik olan, burnun kronik granümatöz enfeksiyonun etiyolojik ajanıdır. *K. planticola* ve *K. terrigena* başlangıçta klinik belirti vermediği ve su, bitki ve toprakla sınırlandığı düşünülse de, klinik örneklerde ortaya çıktığı gösterilmiştir. *K. planticola* insan enfeksiyonlarından *Klebsiella* türleri arasında %3,5-20 sıklığında izole edilmiştir (Stock ve Wiedemann 2001).

Klebsiella pneumoniae fakültatif anaerob, gram negatif bir bakteridir. *Klebsiella*, nadiren enterik hastalıklara neden olan minör intestinal kommensal bir organizmadır. Bu bakteri sığırlarda mastitis, kısıraklarda metritis, buzağılarda septisemi, köpeklerde pnömoni ve üriner sistem enfeksiyonları, taylarda pnömoni ve septisemi ve çocuklarda poliartritis sorunlarına neden olan bir oportunistik patojendir. Buna ek olarak *Klebsiella*, çoklu antibiyotiklere karşı direnç kazanabilir ve hospitalize insanlar ile hayvanlarda nozokomiyal yaralar ve üriner sistem enfeksiyonlarının önemli bir sebebidir (Robert ve ark 2000).

Bakteriyel ÜSİ köpeklerde en önemli klinik problemlerdendir ve yaşamlarının bir döneminde, tüm köpeklerin %14'ünde meydana gelir (Ling 1984). Üriner sistem enfeksiyonlarına en sık sebep olan bakteriler *Escherichia coli*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Pseudomonas* türleridir (Jarvinen 2002). Bu bakteriyel ÜSE'ları sıklıkla canine ürolitiazisi ile birlikte ortaya çıkar ve izole edilen bakteri, ürolitiazis göstermeyip üriner sistemi enfeksiyonu olan hastalarda bulunanlarla benzerdir. Bakteriyel ÜSE'nun rolü, ürolit tipi ile değişir. Özellikle *Staphylococcus intermedius* ve *Proteus* türleri gibi üreaz üreten bakterilerin neden olduğu bakteriyel ÜSE, strüvit (magnezyum amonyum fosfat) ürolitlerin başlangıç, gelişme ve tekrar meydana gelmesinde önemli bir predispoze faktördür (Osborne ve ark 1999). Oysa kalsiyum oksalat, sistin, urat veya silis gibi metabolik ürolitli hastalarda bakteriyel ÜSE sıklıkla sekonder olarak ortaya çıkan bir komplikasyondur (Klausner and Osborne 1979). Bununla birlikte, üriner sistemdeki kalsiyum oksalat ve diğer steril ürolitler, ÜSE sırasında üreaz üreten veya üretmeyen bakteriler ile enfekte hale gelebilirler (Thompson ve Stamey 1973, Shortliffe ve ark 1984).

Ürolit içindeki bakteri muhtemelen, mevcut urolitin yapısını temsil eder. (Osborne ve ark 1993). Canine ürolitiazis durumunda, idrar kültürü ile bulunamayan ÜSE'nu tespit etmek için, (aerobik bakteriyel kültürü elde etmek için) ürolitlerin olduğu kadar idrar kesesinin de mukozal biyopsisinin, sistotomi sırasında aseptik olarak yapılması önerilmektedir (Ruby ve Ling 1986, Waldron 1993, Hamaide ve ark 1998). Bu bakteriyel ÜSE'ları ürolitlerle aynı ya

da daha şiddetli problemlere yol açabilmektedir (Stone ve Barsanti 1992, Bartges ve ark 1999). Bu nedenle, bakteriyel ÜSE'nu tam olarak eradike etmek için, antimikrobiyel duyarlılık testlerini yapmak ve bakteriyi identifiye etmek çok önemlidir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örnekler

İzmir ili ve çevresinde bulunan sahipli köpeklerden tekniğine uygun olarak idrar sondası ile alınan 200 adet idrar örneği Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına soğuk zincirde getirilmiştir. İdrar örneklerinin ekimleri laboratuvara getirildikten sonra bekletilmeden yapılmıştır.

2.1.2. Besiyerleri

2.1.2.1. İzolasyon besiyerleri

Kanlı Agar

Kanlı Agar	40 g
Distile Su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.2-7.4'e ayarlanıp, 15 dakika otoklav edildikten sonra, 50 °C'ye kadar soğutulup, içerisine % 7 oranında steril defibrine koyun kanı ilave edildi (Koneman ve ark 1997).

2.1.2.2. İdentifikasyon besiyerleri

MacConkey Agar

	Gr / lt
Peptone	20
Lactose	10
Bile Salt	5
Neutral Red	0.075
Agar	12

Karışımın pH'sı 7.2-7.4'e ayarlanıp, 15 dk otoklav edildikten sonra, 50 °C'ye kadar soğutularak petri kaplarına döküldü (Koneman ve ark 1997).

2.1.2.3. Lassen'in 3'lü tüp besiyerleri

Tüp I

Peptone	20 g
Lactose	10 g
Glucose	1g
Sodium thiosulphate	0.2 g
Ferric ammonium sulphate	0.3 g
NaCl	6 g
Agar	17 g
Phenol red (0.2'lik)	12.5 ml
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.6'ya ayarlandı ve 121 °C'de 15 dk otoklav edilmek suretiyle steril edildi.

Tüp II

Peptone	5 g
Neopeptone	5 g
Mannitol	2 g
Agar	2.5 g
Potassium nitrate	1.7 g
Phenol red (% 0.2'lik)	20 ml
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.6'ya ayarlandı ve 121 °C'de 15 dk otoklav edilmek suretiyle steril edildi.

Tüp III

L- Tryptophan	0.3 g
Potassium Dihydrogen phosphate	0.1 g
Potassium Hydrogne phosphate	0.1 g
Üre	2 g
Ethanol (% 95'lik)	1 g
Phenol red (% 0.2'lik)	20 ml
NaCl	0.5 g
Distile su	1000 ml

Besiyerinin sterilizasyonu milipore (0.2 µ) filtreden süzülerek yapıldı (Koneman ve ark 1997).

Nitrat test ortamı

Peptone	2 g
KNO ₃	0.2 g
Distile su	100 ml

Karışım kaynayan benmaride eritildikten sonra 10 ml olacak şekilde tüplere dağıtıldı ve 15 dakika otoklavda sterilize edildi (Koneman ve ark 1997).

İndol test ortamı

Peptone	4 g
Sodium chloride	2 g
Distile su	100 ml

Karışımın pH'sı 7.4–7.6'ya ayarlandıktan sonra, tüplere 3-5 ml dağıtıldı ve 15 dakika otoklavda sterilize edildi (Koneman ve ark. 1997).

2.1.3. Ayıraçlar

2.1.3.1. İndol ayıracı (Koneman ve ark. 1997)

P-Dimethylaminobenzaldehyde	10 g
Isoamyl alcohol	150 ml
HCl (konsantre)	50 ml

2.1.3.2. Nitrat ayıraçları (Koneman ve ark 1997)

A indikatörü

Sulphanilic acid	0.8 g
5 N acetic asid	100 ml

B indikatörü

Dimethyl-alfa-naphthylamine	0.6 g
5 N acetic acid	100 ml

2.1.3.3. Boyalar

Gram boyama yapıldı.

2.1.3.4. API-20E Bakteriyel İdentifikasyon Test Kiti

İdentifikasyonları yapılan *Klebsiella pneumoniae* suşlarının tanıların doğrulanması amacıyla API-20E bakteriyel identifikasyon test kiti kullanıldı.

2.1.3.5. Antibiyotik Diskleri

Antibiyotik direncinin belirlenmesinde Oxoid marka Sulbaktam Ampisilin (SAM; 10 µg), Oksitetrasiklin (OT; 30 µg), Gentamisin (CN; 10 µg), Kloramfenikol (E; 5 µg), Sulfometoksazol-Trimetoprim (SXT; 30 µg), Danofloksasin (DFX; 30 µg) disklerinden yararlanılmıştır.

2.1.4. Yöntem

2.1.4.1. Mikrobiyolojik Muayene

2.1.4.1.1. Örneklerden Patojen Etken İzolasyonu

İdrar örneklerinin % 7 koyun kanı ilaveli kanlı agarlara ve McConcey agarlara direkt idrar ve tortudan olmak üzere ekimleri yapıldı. Besiyerleri 37°C’de 24 saat aerobik olarak inkube edildi (Koneman ve ark 1997).

2.1.4.1.2. İzole edilen suşların identifikasyonu

İzolasyon besiyerinde üreyen mikroorganizmaların morfolojileri, pigment ve hemoliz özellikleri ve Gram boyama özellikleri incelenerek, şüpheli kolonilerin belirtilen kriterlere göre identifikasyonları yapıldı. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının tanıları API-20E bakteriyel identifikasyon test kiti ile doğrulandı.

2.1.4.1.2.1. Gram boyama özelliğinin belirlenmesi

Koyun kanlı agarda 24 saatlik inkubasyon sonucunda üreyen kolonilerin morfolojileri, hemoliz ve pigment özellikleri incelendi. Üreyen koloniler, Gram boyamaya tabi tutuldu. Gram boyama sonucunda Gram pozitif ve Gram negatif olarak ayrılan suşlar biyokimyasal testlerle identifikasyona tabi tutuldu.

2.1.4.2. Biyokimyasal testler

Şüpheli kolonilerin kanlı agarlara pasajları yapılarak saf kültürleri elde edildi. Saf kültürlerle katalaz, koagülaz ve oksidaz testleri uygulandı. Bu testler sonucunda Gram pozitif olanların identifikasyonu yapıldı. Ayrıca Gram negatif kolonilerden Lassen’in üçlü tüp besiyerlerine ekimleri yapıldı. Lassen üçlü tüp besiyerleri 37 °C’de 24 saat inkube edildi. İnkubasyondan sonra tüpler değerlendirildi ve Gram negatif suşların identifikasyonları gerçekleştirildi. (Holt ve ark 1994, Koneman ve ark 1997).

2.1.4.2.1. Katalaz testi

İzolasyonu yapılan mikroorganizmaların katalaz aktiviteleri hidrojen peroksit (H₂O₂) ile ölçüldü. Lam üzerine oksijen (O₂) açığa çıkmasından dolayı gaz oluşturan koloniler katalaz pozitif olarak değerlendirildi (Koneman ve ark 1997).

2.1.4.2.2. Koagulaz Testi

Test için taze tavşan plazması kullanılmıştır. Test izolasyonu yapılan Gram ve katalaz pozitif koklara uygulanmıştır. Bunun için temiz bir lam üzerinde bir damla serum fizyolojikte şüpheli koloni homojenize edilmiş ve üzerine bir damla plazma eklenmiştir. Reaksiyon test prosedürlerine göre değerlendirilmiştir (Arda 1997).

2.1.4.2.3. Oksidaz testi

İzolasyonu yapılan mikroorganizmaların oksidaz aktiviteleri, oksidaz diski (Bacto) ile ölçüldü. Şüpheli bakterilerin 24 saatlik saf kültüründen platin öze ile alınan birkaç koloni oksidaz diskine yayılarak sürüldü. 25-30 saniye içinde diskin pembe mor bir renk alması pozitif, renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirildi (Koneman ve ark 1997).

2.1.4.2.4. Nitrat testi

İçinde nitratlı buyyon bulunan tüplere, şüpheli mikroorganizmaların saf kültüründen birkaç koloni ekildi ve 37 °C’de 5 gün inkube edildi. Daha sonra buyyonun üzerine nitrat ayıraçlarından (Solusyon A, Solusyon B), 1’er ml dökülerek besiyerinin renginin kırmızı veya kiremit kırmızısı olması pozitif, renk değişikliğinin olmaması negatif olarak kabul edildi (Koneman ve ark 1997).

3. BULGULAR

Bu tez çalışması ile köpeklerde görülen ve üriner sistem infeksiyonlarında klinik belirti saptanan hayvanlardan *Klebsiella pneumonia* ve diğer bakteri türleri izole ve tanımlanmıştır. Araştırmamızda İzmir ili ve çevresinde bulunan sahipli köpeklerden toplanan 200 adet idrar örneğinden aerobik ekimler yapılmıştır. Yapılan ekimler sonucunda toplam 104 (% 52) örnekten etken izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Üreme gösteren örneklerden tanımlanılan etkenler Çizelge 3.1.'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1.'de görüldüğü gibi toplam incelenen 200 adet idrar örneğinden izole edilen mikroorganizmalar sırasıyla *Klebsiella pneumonia* (% 11.5), *Staphylococcus aureus* (% 10.5), *Corynebacterium spp.* (% 7.5), *Koagulaz Negatif Stafilokok'lar* (% 5.5), *Streptococcus spp.* (% 7), *Enterococcus spp.* (% 2) *Escherichia coli* (% 1.5) *Proteus vulgaris* (% 1.5) *Bacillus spp.* (% 1), *Pasteurella ureae* (% 1), *Candida albicans* (% 1), *Pasteurella pneumonia* (% 0.5), *Plesiomonas shigelloides* (% 0.5), *Neisseria spp.* (% 0.5), *Flavobacterium spp.* (% 0.5) olarak tanımlanmıştır. 96 adet idrar örneğinde (% 48) bakteriyolojik üreme tespit edilememiştir.

Araştırmamızda incelenen 23 adet *Klebsiella pneumonia* suşunun 7 (% 30.4)'si Danofloksasin'e duyarlı, 8 (% 34.8)'i Kloramfenikol'e duyarlı, 12 (% 52.2)'si Gentamisin'e duyarlı, 2 (% 8.7)'si Sulbaktam-Ampisilin'e duyarlı, 8 (% 34.8)'i Oksitetrasiklin'e duyarlı, 8 (% 34.8)'i Sulfometoksazol-Trimetoprim'e duyarlı, olarak saptanmıştır. Ayrıca 11 (% 47.8) adet suş Danofloksasin'e, 12 (% 52.2) adet suş Kloramfenikol'e, 4 (% 17.4) adet suş Gentamisin'e, 20 (% 87) adet suş Sulbaktam-Ampisilin'e, 12 (% 52.2) adet suş Oksitetrasiklin'e, 15 (% 65.2) adet suş ise Sulfometoksazol-Trimetoprim'e dirençli olarak saptanmıştır. Antibiyotiklerin inhibisyon zon sınırları ve antibiyotik duyarlılıklarının izolatlara göre dağılımı Çizelge 3.2. ve Çizelge 3.3.'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. İdrar örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar

	İncelenen Örnek Sayısı (n: 100)	
İzole Edilen Etiyolojik Etken	İzolatlar	İzolasyon yüzdesi (%)
<i>Klebsiella pneumonia</i>	23	11.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	10.5
<i>Corynebacterium spp.</i>	15	7.5
<i>Koagulaz Negatif Stafilokok</i>	11	5.5
<i>Streptococcus spp.</i>	14	7
<i>Enterococcus spp.</i>	4	2
<i>Escherichia coli</i>	3	1.5
<i>Proteus vulgaris</i>	3	1.5
<i>Bacillus spp.</i>	2	1
<i>Pasteurella ureae</i>	2	1
<i>Candida albicans</i>	2	1
<i>Pasteurella pneumonia</i>	1	0.5
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	0.5
<i>Neisseria spp.</i>	1	0.5
<i>Flavobacterium spp.</i>	1	0.5
Bakteriyel üreme olmayan	96	48
TOPLAM	200	100

Çizelge 3.2. Kullanılan antibiyotiklerin etki derecelerine göre inhibisyon zon sınırları (CLSI, 2007)

<i>Antibiyotikler</i>	<i>Dirençli (R)</i>	<i>Az Duyarlı (I)</i>	<i>Duyarlı (S)</i>
DFX	≤ 17	18-20	≥ 22
C	≤ 20	-	≥ 21
CN	≤ 12	13 – 14	≥ 15
SAM	≤ 21	22–29	≥ 30
OT	≤ 14	15–20	≥ 21
SXT	≤ 15	16 – 18	≥ 19

DFX: Danofloksasin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, SAM: Sulbaktam-Ampisilin, OT: Oksitetrasiklin, SXT: Sulfametaksazol-Trimetoprim

Çizelge 3.3. Antibiyotik duyarlılıklarının izolatlara göre dağılımı.

<i>İzolatlar</i>	DFX	C	CN	SAM	OT	SXT
<i>Klebsiella pneumonia 1</i>	S	S	S	R	S	S
<i>Klebsiella pneumonia 2</i>	I	I	S	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia 3</i>	S	R	S	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia 4</i>	R	R	S	R	S	R
<i>Klebsiella pneumonia 5</i>	I	S	R	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia 6</i>	R	R	I	R	R	S
<i>Klebsiella pneumonia 7</i>	R	S	I	R	R	S
<i>Klebsiella pneumonia 8</i>	R	R	S	I	I	R
<i>Klebsiella pneumonia 9</i>	S	I	I	R	S	R
<i>Klebsiella pneumonia 10</i>	I	S	I	S	S	S
<i>Klebsiella pneumonia 11</i>	R	R	S	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia 12</i>	S	I	S	R	S	R
<i>Klebsiella pneumonia 13</i>	R	R	S	R	R	S
<i>Klebsiella pneumonia 14</i>	S	R	I	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia 15</i>	R	S	I	R	S	R
<i>Klebsiella pneumonia 16</i>	R	R	R	R	S	S
<i>Klebsiella pneumonia 17</i>	I	S	I	R	I	S
<i>Klebsiella pneumonia 18</i>	R	R	S	S	I	R
<i>Klebsiella pneumonia 19</i>	S	R	S	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia 20</i>	R	R	S	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia 21</i>	S	R	R	R	S	S
<i>Klebsiella pneumonia 22</i>	R	S	S	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia 23</i>	I	S	R	R	R	R

DFX: Danofloksasin, K: Kanamisin, CN: Gentamisin, SAM: Sulbaktam-Ampisilin, OT: Oksitetrasiklin, SXT: Sulfametaksazol-Trimetoprim

4. TARTIŞMA

E. coli, *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, ve *Enterococcus spp.*, köpeklerde idrar yolu infeksiyonlarında en sık izole edilen mikroorganizmalardır. Prevalans açısından yapılan çalışmalarda *Klebsiella spp.* ve *E. coli* türlerinin yoğunluğu daha fazla görülmektedir. Bizim çalışmamızda da en sık izole edilen bakteri *Klebsiella pneumonia* olarak saptanmıştır. Diğer bakteriyel etkenlere ek olarak bir adet *Candida albicans* izolatının saptanması, uterusu şekillenmesi muhtemel olan mikotik bir infeksiyonu akla getirmektedir.

Barrak ve arkadaşları (2003) köpek ve kedilerde görülen üriner sistem infeksiyonları hakkında yaptıkları bir çalışmada köpeklerde çiftleşme sonucu uterusu mikotik infeksiyonların gelişebileceğini ve bu infeksiyonların genitoüriner bölgede yayılabileceğini belirtmişlerdir. Fırsatçı patojen etkenlerin izole edilmesi de birincil derece patojen etkenin eradikasyonundan sonra flora bakterilerinin gerek direnç mekanizması ile gerekse normal flora dengesinin bozulması sonucu diğer etkenlerin aşırı üremesine bağlı olarak açıklanabilmektedir.

Üreopatojenik etkenlerin genitoüriner boşlukta kendilerine biofilm oluşturmaları sonucu üçüncü nesil Sefalosporinlere ve Beta-laktamazlara karşı dirençli hale gelmeleri diğer yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir. Çalışmamızda da Sulbaktam-Ampisilin ve Kloramfenikol'e karşı gelişmiş bir direnç buna rağmen klinik pratikte böbrek hasarına neden olduğu için tercih edilmeyen Gentamisin'e karşı duyarlılık söz konusudur. Katherine ve arkadaşları (2008) böbrek yetmezliklerine yol açmayacak düzeyde düşük dozda Gentamisin kullanımının *Klebsiella* ve *E. coli* kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarında başarı sağladığını bildirmişlerdir. Buna karşın Sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı % 90 oranlarında gelişen dirençlilik durumu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. Bu nedenden dolayı çalışmamızda küçük hayvan pratiğinde sık başvuru alan Sefalosporin antibiyotik etken maddesi kullanılmamıştır.

Ülkemizde *Klebsiella* infeksiyonlarına yönelik yapılan araştırmaların bazılarında örnek vererek; Günay ve arkadaşlarının köpeklerde farklı siklus evrelerindeki bakteriyel vaginal floranın incelenmesi üzerine yaptıkları bir araştırmada (2004), değişik ırklardan 53 adet dişi köpek materyal olarak kullanılmıştır. Çeşitli ırklardan 53 adet köpekten alınan vaginal

svaplardan 48 (%90.5)'inden 56 adet etken izole edilmiştir. Bunların 9'u *E.coli* (%16), 9'u *Candida spp.* (%16), 6'sı *Citrobacter diversus* (%10.7), 5'i. *Citrobacter freundii* (%8.9), 4'ü *Klebsiella oxytoca* (%7.1), 4'ü *Klebsiella pneumoniae* (%7.1), 3'ü *S. aureus* (%5.3), 3'ü *S. intermedius* (%5.3), 3'ü *Bacillus spp.* (%5.3), 2'si. *S. saprophyticus* (%3.5), 2'si *Streptococcus agalactiae* (%3.5), 2'si *Micrococcus spp.* (%3.5), 2'si *Citrobacter amalonaticus* (%3.5) ve 2'si *Enterobacter agglomerans* (%3.5) olarak izole ve identifiye edilmiştir. *Klebsiella pneumoniae*'nin % 7.1 oranında izole edilmesi dikkat çekicidir.

Kırşan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (2000), sağlıklı dişi köpeklerin uterus ve vaginasından alınan örneklerin bakteriyolojik olarak incelenmesi sonucunda *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E.coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Micrococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Pasteurella spp.*, *Corynebacterium spp.* ve *Bacillus spp.* izole etmişlerdir. Vaginal örneklerden izole edilen mikroorganizmalar arasında *Staphylococcus spp.* (%30.90), *Streptococcus spp.* (%29.08), *E.coli* (%25.45) ve *Pasteurella spp.* (%18.18), uterus örneklerinde ise *Streptococcus spp.* (%41.29) ve *E.coli* (%23.91) en sık izole edilen mikroorganizmalar oldu. *Klebsiella spp.* % 1.81 oranında izole edilmiştir.

Enterik Gram-negatif bakterilerde, beta-laktamaz sentezi en önemli antibiyotik direnç mekanizmasıdır. Geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı, GSBL gibi daha geniş spektrumlu betalaktamazların ortaya çıkması ile sonuçlanmıştır (Livermore 1995). Günümüze kadar birçok GSBL enzimi tanımlanmış olup tespit edildiği 1980'li yılların başından itibaren giderek artan sıklıkta üretilmeye devam etmektedir. Postoperatif ortamda selektif baskı ile belli bir süre sonra, hastaların solunum ve gastrointestinal sistemlerinde, GSBL (+) bakteriler kolonize olmaktadır. Uzun süre cerrahi kliniklerde manipülasyona maruz kalan, invaziv girişim uygulanan veya açık yarası bulunan, genel durumu bozuk hastalardan izole edilen GSBL enzimleri özellikle *Klebsiella* türleri ve *E. coli* suşlarında yaygındır (Philippon ve ark 1994). GSBL'lar 1983 yılında Almanya'da saptanmış ve ilk kez Fransa'da klinik sorun yaratmıştır (Livermore 1996). 1985-1987 yılları arasında Fransa'da büyük bir salgın baş göstermiştir. GSBL oluşturan suşlar Paris civarındaki hastanelerde 1985 yılında %1'in altında saptanırken, 1988-1989'da %10-11 gibi bir sıklıkla görülmüşlerdir (Stürenburg 2003). Daha sonra GSBL oluşturan suşlar Avrupa, Amerika ve Uzakdoğu'da büyük salgınlara neden olmuşlardır. Amerika'da 1989-1990 yılları arasında Chicago, New York, San Francisco ve Boston'dan bu suşlarla gelişen salgınlar bildirilmeye başlanmıştır.

1994'e kadar Amerika'da Ulusal Nozokomiyal İnfeksiyon Araştırma Projesi'nin sonuçlarına göre, *Klebsiella* suşlarının % 8'inin GSBL oluşturduğu bildirilmiştir (Gioia ve ark 2000). Livermore ve Yuan ve arkadaşları (2000) Avrupa'daki 35 merkezin yoğun bakım ünitelerine ait 966 *Klebsiella* suşunda GSBL varlığını araştırmışlar. Türkiye'nin de iki merkezden 63 suşla katıldığı çalışmada en yüksek GSBL pozitifliği %59 oranıyla ülkemiz suşlarında bulunmuştur. Çalışmaya katılan diğer 9 Avrupa ülkesi içinde bu oran %1-49 arasında değişmektedir. Goossens ve arkadaşlarının (Borer ve ark 2002) yaptıkları veri analizi çalışmalarında 1997 ve 2000 yılları arasında GSBL sıklığının Rusya'da yaklaşık 2 kat, Türkiye'de 2 kat, Almanya'da 0.5 kat arttığını saptamışlardır. Yapılan tüm araştırmalar GSBL üretiminin dünyada ve ülkemizde hızla arttığına işaret etmektedir. Son yıllarda kromozomal kaynaklı GSBL üretimi 58 daha sık bildirilmesine rağmen, üretimin asıl olarak plazmid kaynaklı olması, bu direncin hızla yaygınlaşmasına neden olmaktadır. Zaten GSBL'nin insan ve hayvan sağlığı yönünden en önemli tehditi bu hızlı yayılımı ve zamanla sıklığındaki ilerleyici artışıdır (Kim ve ark 2005). Bir bölgede GSBL pozitif Enterobakterilerin sıklığının bilinmesi; klinisyenin antibiyotik tedavisi seçeneklerinin belirlenmesinde yol gösterici olabileceği gibi, dirençli infeksiyon etkenlerinin yayılımı ve alınabilecek önlemler konusuna da ışık tutabilir. Genişlemiş spektrumlu betalaktamaz üreten bakteriler in vitro 3. kuşak sefalosporinlere duyarlı bulunsalar bile genellikle in vitro dirençli olduklarından söz konusu antibiyotiklerin tedavide kullanılması başarısızlığa neden olmaktadır (Karbasizad ve ark 2003). Bu nedenle GSBL üreten suşların neden olduğu enfeksiyonların uygun bir şekilde tedavi edilmesi öncelikle bu enzimleri üreten suşların doğru bir şekilde saptanabilmesi ile mümkündür. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlarda, beta-laktam direncinin doğru bir biçimde ortaya konulmasında disk-difüzyon tekniği veya MİK saptamaya yönelik deneyler her zaman yeterli olamamaktadır (Manchanda ve ark 2005). Özellikle 3. kuşak sefalosporinlere karşı orta düzeyde dirençli bulunan *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının GSBL üreten suşlar olup, gerçekten de bu antibiyotiklere karşı tamamen dirençli olabilecekleri unutulmamalıdır (Finkelstein ve ark 1998).

Üçüncü kuşak Sefalosporin direnci gösteren ancak bunun yanında Sefoksitin duyarlılığı bulunan bakteri suşlarının GSBL ürettiği tahmin edilebilir. Bu amaçla, 3. kuşak sefalosporinleri temsilen Seftazidim ve Sefotaksim, monobaktamlardan kullanılarak antibiyogramlar düzenlenmelidir. Eğer direnç gelişimi söz konusu ise Gentamisin etken maddesine başvurulabilir. (Finkelstein ve ark 1998).

Ulutürk ve ark. (2000), idrar yolu enfeksiyonlu hastalardan izole ettikleri *K. pneumoniae* suslarının hemen hemen tümünün ampicilline direnç gösterdiğini saptamışlardır. Rahman ve ark. (2004)'da, *K. pneumoniae* suslarının % 95.5'inin ampicilline dirençli olduklarını gözlemişlerdir. Finkelstein ve ark. (1998), üriner sistem enfeksiyonlarından izole ettikleri *Klebsiella* spp. suslarının ampicillin direncini % 93 olarak ortaya koymuşlardır. Gram negatif bakteriler ile yaptıkları çalışmada *Klebsiella* türlerinin ampicillin direncini % 91 oranında belirlenmiştir.

Kim ve ark. (2005), ESBL pozitif *K. pneumoniae* suslarının Ampicillin direncini % 97.7, olarak saptarken, Borer ve ark. (2002), ESBL üreten Enterobacteriaceae familyası üyesi bakterilerin ampicillin direncini %100 olarak bulmuşlardır.

Karbaszaed ve ark. (2003) 66 nazokomiyal enfeksiyona neden olan koliformlardan *Klebsiella pneumoniae*'nin chloramphenicol direncini % 30 olarak bulmuşlardır. Küçükates ve Kocazeybek (2002), nazokomiyal solunum sistemi enfeksiyonlu hastalardan elde ettikleri *Klebsiella* spp. suslarının chloramphenicol direncini % 59.4 olarak belirlemişlerdir.

Manchanda ve ark. (2005), çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *K. Pneumoniae* suslarının chloramphenicol direnç oranını % 49.6 tespit etmişlerdir.

Finkelstein ve ark. (1998), üriner sistemden izole edilen *Klebsiella* suslarında Gentamisin direncini % 10 olarak tespit etmişlerdir.

Borer ve ark. (2002), Güney İsrail'de Enterobacteriaceae familyası üyesi bakterilerde yaptıkları araştırmada; ESBL üreten bakterilerin % 66.6'sının gentamicine, % 23.3'ünün amikacine dirençli olduğunu gözlerken, ESBL üretmeyen susların gentamicin direncini % 2,7 ve amikacin direncini ise çok düşük düzeyde (% 0.9) bulmuşlardır.

Küçükates ve Kocazeybek (2002), *K. pneumoniae* suşlarının Gentamisin direncini % 71.9 olarak tespit etmişlerdir. Aksaray ve ark. (2000), *Klebsiella* spp. suşlarının gentamicin direncini % 65.9 olarak ortaya koymuşlardır.

5. SONUÇ

Tez çalışmasında, konvansiyonel bakteri izolasyon ve identifikasyon metotları kullanılmıştır. Araştırmada, İzmir ili ve çevresinde bulunan sahipli köpeklerden alınan 200 adet idrar örneğinden toplam 23 (% 11.5) adet *Klebsiella pneumonia* türü izole ve identifiye edilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, rutin teşhis metotları ile köpeklerde üriner sistem hastalıklarına hastalığına yol açabilecek bakteriyel etkenlerin kolay ve uygun bir şekilde saptanabileceği ortaya çıkarılmıştır.

Araştırmamızın % 48 oranında bakteriyel üremenin görülmemesi, köpeklerde üriner sistem hastalıklarında ilk başvuru alan preperatların antibiyotikler olduğunu göstermektedir. Bu çalışma sonucunda en etkili antibiyotiğin Gentamisin olduğu ve Kloramfenikol, Sulbaktam-Ampisilin ve Oksitetrasiklin gibi antibiyotiklere de direnç gelişimi olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Sonuç olarak bu tez çalışması, köpeklerde üriner sistem infeksiyonlarında hasta profilini ortaya çıkarması ve ilaç seçimi ve kullanımı hakkında bir rehber olabilmektedir. Ülkemizde köpeklerde görülen üriner sistem infeksiyonlarının tanısı açısından daha sağlıklı veriler elde edilebilmesi için, çalışmaların yaygınlaştırılması ve devam ettirilmesi önerilmektedir.

ÖZET

Köpeklerin İdrar Örneklerinden *Klebsiella pneumoniae* İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıkları

Araştırmamızda İzmir ili ve çevresindeki üriner sistem hastalığına yakalanmış 200 adet sahipli köpekten idrar örnekleri alınmış ve bu örneklerden bakteriyel etkenlerin izolasyon ve identifikasyonları yapılmış, etkenlerin antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir.

Araştırma sonucu izole edilen mikroorganizmalar *Klebsiella pneumonia* (% 11.5), *Staphylococcus aureus* (% 10.5), *Corynebacterium spp.* (% 7.5), *Koagulaz Negatif Stafilokok*'lar (% 5.5), *Streptococcus spp.* (% 7), *Enterococcus spp.* (% 2) *Escherichia coli*(% 1.5) *Proteus vulgaris* (% 1.5) *Bacillus spp.* (% 1), *Pasteurella ureae* (% 1), *Candida albicans* (% 1), *Pasteurella pneumonia* (% 0.5), *Plesiomonas shigelloides* (% 0.5), *Neisseria spp.* (% 0.5), *Flavobacterium spp.* (% 0.5) olarak belirlenmiştir. 96 adet idrar örneğinde (% 48) bakteriyolojik üreme tespit edilememiştir.

Araştırmada incelenen *Klebsiella pneumonia* izolatları Gentamisin'e % 52.2 oranında duyarlı bulunurken, Sulbaktam-Ampisilin'e % 87 oranında, Kloramfenikol'e ise % 52.2 oranında direnç geliştiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Klebsiella pneumonia*, köpek, bakteri, identifikasyon, antibiyotik duyarlılığı

SUMMARY

Identification of *Klebsiella pneumoniae* from urine samples in dogs and Antimicrobial Susceptibility

In this study, a total of 200 urine specimen were collected from owned dogs with urinary system infection in the region of Izmir province and bacterial isolation, identification and antibiotic susceptibility were detected.

The microorganisms isolated from these urine samples are *Klebsiella pneumonia* (11.5 %), *Staphylococcus aureus* (10.5 %), *Corynebacterium spp.* (7.5 %), *Coagulase Negative Staphylococci* (5.5 %), *Streptococcus spp.* (7 %), *Enterococcus spp.* (2 %) *Escherichia coli* (1.5 %) *Proteus vulgaris* (1.5 %) *Bacillus spp.* (1 %), *Pasteurella ureae* (1 %), *Candida albicans* (1 %), *Pasteurella pneumonia* (0.5 %), *Plesiomonas shigelloides* (0.5 %), *Neisseria spp.* (0.5 %), *Flavobacterium spp.* (0.5 %) respectively. There was not detected any bacterial growth out of 96 (48 %) specimen.

While the isolates examined in this study were found susceptible to Gentamicin in the ratio of 52.2 %, the isolates were also found resistant to Sulbactam-Ampicillin in the ratio of 87 %, and resistant to Chloramphenicol acid in the ratio of 52.2 %.

Keywords: *Klebsiella pneumonia*, dog, bacteria, identification, antibiotic susceptibility

KAYNAKLAR

Aguilar A, Merino S, Rubires X, Tomas JM. *Influence of osmolarity on lipopolysaccharides and virulence of Aeromonas hydrophila serotype O:34 strains grown at 37°C.* Infection and Immunity 1997; 65: 1245–1250.

Alberti S, Alvarez D, Merino S, Casado MT, Vivanco F, Tomas JM, Benedi VJ. *Analysis of complement C3 deposition and degradation on Klebsiella pneumoniae,* Infection and Immunity, 1996; 64: 4726–4732.

Alberti S, Marques G, Camprubi S, Merino S, Tomas JM, Vivanco F, Benedi VJ. *Clq binding and activation of the complement classical pathway by Klebsiella pneumoniae outer membrane proteins,* Infection and Immunity, 1993; 61: 852–860.

Amako K, Meno Y, Takade A. *Fine structures of the capsules of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli K1.* Journal of Bacteriology, 1988; 170: 4960–4962.

Arda M. *Temel Bazı Önemli Biyokimyasal Testler.* Medisan Yayın Serisi No:25, 1. Baskı; 1997. p. 303-304.

Arlet G, Rouveau M, Casin I, Bouvet PJM, Lagrange PH, Philippon A. *Molecular epidemiology of Klebsiella pneumoniae strains that produce SHV-4 β -lactamase and which were isolated in 14 french hospitals.* Journal of Clinical Microbiology, 1994; 32: 2553–2558.

Athamna A, Ofek I, Keisari Y, Markowitz S, DGGS, Sharon N *Lectinophagocytosis of encapsulated Klebsiella pneumoniae mediated by surface lectins of guinea pig alveolar macrophages and human monocyte- derived macrophages.* Infection and Immunity, 1991; 59: 1673–1682.

Ayars GH, Altman LC, Fretwell MD. *Effect of decreased salivation and pH on the adherence of Klebsiella species to human buccal epithelial cells.* Infection and Immunity, 1982; 38: 179–182.

Ayling-Smith B, Pitt TL. *State of the art in typing: Klebsiella spp.* Journal of Hospital Infection, 1990; 16: 287–295.

Babu JP, Abraham SN, Dabbous MK, Beachey EH. *Interaction of a 60-Kilodalton D-mannose-containing salivary glycoprotein with type 1 fimbriae of Escherichia coli.* Infection and Immunity, 1986; 54: 104–108.

Bagley ST, Seidler RJ, Talbot HWJ, Morrow JE. *Isolation of Klebsiellae from within living wood.* Applied and Environmental Microbiology, 1978; 36: 178–185.

Bagley S, Seidler RJ, Brenner DJ. *Klebsiella planticola sp. nov.: a new species of Enterobacteriaceae found primarily in nonclinical environments.* Current Microbiology, 1981; 6: 105–109.

Balish MJ, Jensen J, Uehling DT. *Bladder mucin: a scanning electron microscopy study in experimental cystitis.* Journal of Urology, 1982; 128: 1060–1063.

Barberis LI, Eraso AJ, Pajaro MC, Albesa I. *Molecular weight determination and partial characterization of Klebsiella pneumoniae hemolysins.* Canine Journal of Microbiology, 1986; 32: 884–888.

Barrak M, Shelly L. *Candida spp. Urinary Tract Infections in 13 Dogs and Seven Cats: Predisposing Factors, Treatment, and Outcome* Journal of the American Animal Hospital Association, 2003; 39:263-270

Bartges JW, Osborne CA, Lulich JP, Kruger JM, Sanderson SL, Koehler LA, Ulrich LK. *Canine urate urolithiasis: etiopathogenesis, diagnosis and management,* Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 1999; 29: 161-183

Batshon BA, Baer H, Shaffer MF. *Immunologic paralysis produced in mice by Klebsiella pneumoniae type 2 polysaccharide.* Journal of Immunology, 1963; 90: 121–126.

Bauernfeind A. *Epidemiological typing of Klebsiella by bacteriocins.* Methods in Microbiology, 1984; 16: 213–224.

Bauernfeind A, Petermüller C, Schneider R. *Bacteriocins as tools in analysis of nosocomial Klebsiella pneumoniae infections.* Journal of Clinical Microbiology, 1981; 14: 15–19.

Bauernfeind A, Rosenthal E, Eberlein E, Holley M, Schweighart S. *Spread of Klebsiella pneumoniae producing SHV-5 beta-lactamase among hospitalized patients.* Infection, 1993; 21: 18–22.

Benjamin WH, Turnbough CL, Posey BS, Briles DE. *The ability of Salmonella typhimurium to produce the siderophore enterobactin is not a virulence factor in mouse typhoid.* Infection and Immunity, 1985; 50: 392–397.

Bennett CJ, Young MN, Darrington H. *Differences in urinary tract infection in male and female spinal cord injury patients on intermittent catheterization.* Paraplegia, 1995; 33: 69–72.

Bergogne-Berezin E. *Nosocomial pathogens: new pathogens, incidence, prevention.* Presse Medicale, 1995; 24: 89–97.

Bingen EH, Desjardins P, Arlet G, Bourgeois F, Marianikurkdjian P, Lambertzechovsky NY, Denamur E, Philippon A, Elion J. *Molecular epidemiology of plasmid spread among extended broad-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolates in a pediatric hospital.* Journal of Clinical Microbiology, 1993; 31: 179–184.

Björkstén B, Kaijser B. *Interaction of human serum and neutrophils with Escherichia coli strains: differences between strains isolated from urine of patients with pyelonephritis or asymptomatic bacteriuria.* Infection and Immunity, 1978; 22: 308–311.

Borer A, Gilod J, Menashe G, Peled N, Riesenber K, Schlaeffert F. *Extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae strains in community-acquired bacteremia in Southern Israel.* Medical Science Monitor, 2002; 8: 44-47.

Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K. *Imipenem resistance in Klebsiella pneumoniae is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC β -lactamase, and the loss of an outer membrane protein.* Antimicrobial Agents Chemotherapy, 1997; 41: 563-569.

Brock JH, Williams PH, Liceaga J, Wooldridge KG *Relative availability of transferrin-bound iron and cell-derived iron to aerobactin-producing and enterobactin-producing strains of Escherichia coli and to other microorganisms.* Infection and Immunity, 1991; 59: 3185-3190.

Brown C, Seidler RJ *Potential pathogens in the environment: Klebsiella pneumoniae, a taxonomic and ecological enigma.* Applied Microbiology, 1973; 25: 900-904.

Bryan CS, Reynolds KL, Brenner ER. *Analysis of 1,186 episodes of gram-negative bacteremia in non-university hospitals: the effects of antimicrobial therapy,* Reviews of Infectious Diseases, 1983; 5: 629-638.

Buffenmeyer CL, Rychek RR, Yee RB. *Bacteriocin (klebocin) sensitivity typing of Klebsiella,* Journal of Clinical Microbiology, 1976; 4: 239-244.

Bullen JJ, Rogers HJ, Griffiths E. *Role of iron in bacterial infection,* Current Topics in Microbiology and Immunology, 1978; 80: 1-35.

Burwen DR, Banerjee SN, Gaynes RP. *Ceftazidime resistance among selected nosocomial gram-negative bacilli in the United States,* Journal of Infectious Diseases, 1994; 170: 1622-1625.

Campbell WN, Hendrix E, Cryz S, Cross AS. *Immunogenicity of a 24-valent Klebsiella capsular polysaccharide vaccine and an eightvalent Pseudomonas O-polysaccharide conjugate vaccine administered to victims of acute trauma.* Clinical Infectious Diseases, 1996; 23: 179-181.

Casewell MW, Phillips I. *Epidemiological patterns of Klebsiella colonization and infection in an intensive care ward,* Journal of Hygiene Cambridge, 1978; 80: 295-300.

Christensen SC, Korner B. *An endemic caused by multiresistant Klebsiella in an urological unit.* Scandinavian Journal of Urology and Nephrology, 1972; 6: 232-238.

Ciurana B, Tomas JM. *Role of lipopolysaccharide and complement in susceptibility of Klebsiella pneumoniae to nonimmune serum,* Infection and Immunity, 1987; 55: 2741-2746.

Clegg S, Gerlach GF. *Enterobacterial fimbriae.* Journal of Bacteriology, 1987; 169: 934-938.

Combe ML, Pons JL, Sesboue R, Martin JP. *Electrophoretic transfer from polyacrylamide gel to nitrocellulose sheets: a new method to characterize multilocus enzyme genotypes of Klebsiella strains.* Applied and Environmental Microbiology, 1994; 60: 26–30.

Cooke EM, Pool R, Brayson JC, Edmondson AS, Munro ME, Shinebaum R. *Further studies on the source of Klebsiella aerogenes in hospital patients.* Journal of Hygiene Cambridge, 1979; 83: 391–395.

Coovadia YM, Johnson AP, Bhana RH, Hutchinson GR, George RC, Hafferjee IE. *Multiresistant Klebsiella pneumoniae in a neonatal nursery: the importance of maintenance of infection control policies and procedures in the prevention of outbreaks.* Journal of Hospital Infection, 1992; 22: 197–205.

Cryz SJ, Fürer E, Germanier R. *Experimental Klebsiella pneumoniae burn wound sepsis: role of capsular polysaccharide.* Infection and Immunity, 1984; 43: 440–441.

Cryz SJ, Jr, Fürer E, Germanier R. *Safety and immunogenicity of Klebsiella pneumoniae K1 capsular polysaccharide vaccine in humans.* Journal of Infectious Diseases, 1985; 151: 665–671.

Cryz SJ, Jr, Mortimer P, Cross AS, Fürer E, Germanier R. *Safety and immunogenicity of a polyvalent Klebsiella capsular polysaccharide vaccine in humans.* Vaccine, 1986; 4: 15–20.

Cryz SJ, Mortimer PM, Mansfield V, Germanier R. *Seroepidemiology of Klebsiella bacteremic isolates and implications for vaccine development.* Journal of Clinical Microbiology, 1986; 23: 687–690.

Curie K, Speller DCE, Simpson RA, Stephens M, Cooke DI. *A hospital epidemic caused by a gentamicin-resistant Klebsiella aerogenes.* Journal of Hygiene Cambridge, 1978; 80: 115–123.

Darfeuille-Michaud A, Jallat C, Aubel D, Sirot D, Rich C, Sirot J, Joly B. *R-plasmid-encoded adhesive factor in Klebsiella pneumoniae strains responsible for human nosocomial infections.* Infection and Immunity, 1992; 60: 44–45.

Davis TJ, Matsen JM. *Prevalence and characteristics of Klebsiella species: relation to association with a hospital environment.* Journal of Infectious Diseases, 1974; 130: 402–405.

De Champs C, Rouby D, Guelon D, Sirot J, Sirot D, Beytout D, Gourgand JM. *A case-control study of an outbreak of infections caused by Klebsiella pneumoniae strains producing CTX-1 (TEM-3) betalactamase.* Journal of Hospital Infection, 1991; 18: 5–13.

De La Torre MG, Romero-Vivas J, Martinez-Beltran J, Guerrero A, Meseguer M, Bouza E. *Klebsiella bacteremia: an analysis of 100 episodes.* Reviews of Infectious Diseases, 1985; 7: 143–150.

De Lorenzo V, Martinez JL. *Aerobactin production as a virulence factor: a reevaluation.* European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases, 1988; 7: 621–629.

Di Martino P, Bertin Y, Girardeau P, Livrelli V, Joly B, Darfeuille- Michaud A. *Molecular characterization and adhesive properties of CF29K, an adhesin of Klebsiella pneumoniae strains involved in nosocomial infections.* Infection and Immunity, 1995; 63: 4336–4344.

Doebbeling BN. *Epidemics: identification and management.* R. P. Wenzel (eds), *Prevention and control of nosocomial infections*, 2nd ed. The Williams and Wilkins Co. 1993. p. 177–206, Baltimore.

Domenico P, Johanson WG, Straus DC. *Lobar pneumonia in rats produced by clinical isolates of Klebsiella pneumoniae*, Infection and Immunity, 1982; 37: 327–335.

Duggan JM, Oldfield GS, Ghosh HK. *Septicaemia as a hospital hazard.* Journal of Hospital Infection, 1985; 6: 406–412.

Edberg SC, Piscitelli V, Cartter M. *Phenotypic characteristics of coliform and noncoliform bacteria from a public water supply compared with regional and national clinical species.* Applied and Environmental Microbiology, 1986; 52: 474–478.

Edelman R, Taylor DN, Wasserman SS, Mcclain JB, Cross AS, Sadoff JC, Que JU, Cryz SJ. *Phase I trial of a 24-valent Klebsiella capsular polysaccharide vaccine and an eight-valent Pseudomonas O-polysaccharide conjugate vaccine administered simultaneously.* Vaccine, 1994; 12: 1288–1294.

Edmondson AS, Cooke EM. *The development and assessment of a bacteriocin typing method for Klebsiella*, Journal of Hygiene Cambridge, 1979; 82: 207– 233.

Edmondson AS, Cooke EM, Wilcock APD, Shinebaum R. *A comparison of the properties of Klebsiella strains isolated from different sources.* Journal of Medical Microbiology, 1980; 13: 541–550.

Edwards PR, Ewing WH. *Identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Burgess Publishing Co, Minneapolis, Minnesota 1986.

Ehrenwort L, Baer H. *The pathogenicity of Klebsiella pneumoniae for mice: the relationship to the quantity and rate of production of type-specific capsular polysaccharide*, Journal of Bacteriology, 1956; 72: 713–717.

Fader RC, Davis CP. *Effect of piliation on Klebsiella pneumoniae infection in rat bladders.* Infection and Immunity, 1980; 30: 554–561.

Fader RC, Davis CP. *Klebsiella pneumoniae-induced experimental pyelitis: the effect of piliation on infectivity.* Journal of Urology, 1982; 128: 197–201.

Ferragut C, Izard D, Gavini F, Kersters K, De Ley J, Leclerc H. *Klebsiella trevisanii: a new species from water and soil*, International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology, 1983; 33: 133–142.

Finkelstein R., Kassis E, Reinhertz G, Gorenstein S, Herman P. *Community-acquired urinary tract infection in adults: a hospital viewpoint.* Journal of Hospital Infection 1998; 38:193-202. Freitas, A.L.P., Machado, D.P., Soare,

Firon N, Ofek I, Sharon N. *Carbohydrate-binding sites of the mannose-specific fimbrial lectins of enterobacteria.* Infection and Immunity, 1984; 43: 1088–1090.

French GL, Shannon KP, Simmons N. *Hospital outbreak of Klebsiella pneumoniae resistant to broad-spectrum cephalosporins and b-lactam-b-lactamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5 b-lactamase.* Journal of Clinical Microbiology, 1996; 34: 358–363.

Gavini F, Izard D, Grimont PAD, Beji A, Ageron E, Leclerc H. *Priority of Klebsiella planticola Bagley, Seidler, and Brenner 1982 over Klebsiella trevisanii Ferragut, Izard, Gavini, Kersters, DeLey, and Leclerc 1983,* International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology, 1986; 36: 486–488.

Gavini F, Leclerc H, Lefebvre B, Ferragut C, Izard D. *Etude taxonomique d'enterobacteries appartenant ou apparentees au genre Klebsiella.* Annals of Microbiology (Inst Pasteur), 1977; 128B: 45–49.

Gerlach GF, Allen BL, Clegg S. *Type 3 fimbriae among enterobacteria and the ability of spermidine to inhibit MR/K hemagglutination.* Infection and Immunity, 1989; 57: 219–224.

Gioia SB, Livermore DM. *Antimicrobial resistance among Klebsiella spp collected from intensive care units in southern and western europe in 1998.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2000;45:183-189.

Goetz AM, Rihs JD, Chow JW, Singh N, Muder RR. *An outbreak of infusion-related Klebsiella pneumoniae bacteremia in a liver transplantation unit,* Clinical Infectious Diseases, 1995; 21: 1501–1503.

Gotoff SP. *Sepsis in the newborn,* S. Krugman, S. L. Katz, A. A. Gershon, and C. M. Wilfert (eds), *Infectious diseases of children*, 9th ed. Mosby—Year Book, p. 402–418. St Louis, Mo Physicians 1992; 89: 933–941.

Gouby A, Neuwirth C, Bourg G, Bouziges N, Carlesnurit MJ, Despaux E, Ramuz M. *Epidemiological study by pulsed-field gel electrophoresis of an outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in a geriatric hospital,* Journal of Clinical Microbiology, 1994; 32: 301–305.

Gower PE, Taylor PW, Koutsaimanis KG, Roberts AP. *Serum bactericidal activity in patients with upper and lower urinary tract infections,* Clinical Science, 1972; 43: 13–22.

Griffiths E, Chart H, Stevenson P. *High-affinity iron uptake systems and bacterial virulence,* Roth JA (eds), *Virulence mechanisms of bacterial pathogens.* American Society for Microbiology, 1988. p. 121–137, Washington.

Griffiths E. *The iron-uptake systems of pathogenic bacteria,* J. J. Bullen and E. Griffiths (eds), *Iron and infection.* John Wiley & Sons, Inc, 1987. p. 69– 137. New York.

Guarino A, Guandalini S, Alessio M, Gentile F, Tarallo L, Capano G, Migliavacca M, Rubino A. *Characteristics and mechanism of action of a heat-stable enterotoxin produced by Klebsiella pneumoniae from infants with secretory diarrhea,* Pediatric Research, 1989; 25: 514–518.

Günay Ü, Günay A, Ülgen M, Özel AE. *Köpeklerde Farklı Siklus Evrelerindeki Vaginal Bakteriyel Floranın İncelenmesi.* Uludag University Journal of Faculty of Veterinary Medicine, 2004; 23 (1-2-3): 15-19.

Gür D, Pitt TL, Hall LMC, Akalın EH, Livermore DM. *Diversity of klebsiellae with extended-spectrum β -lactamases at a turkish university hospital,* Journal of Hospital Infection, 1992; 22: 163–178.

Hall FA. *Bacteriocine typing of Klebsiella spp,* Journal of Clinical Pathology, 1971; 24: 712–716.

Hamaide AJ, Martinez SA, Hauptman J, Walker RD. *Prospective comparison of four sampling methods (cystocentesis, bladder mucosal swab, bladder mucosal biopsy and urolith culture) to identify urinary tract infections in dogs with urolithiasis,* Journal of American Animal Hospital Association, 1998; 34: 423–430.

Hart CA. *Klebsiellae and neonates,* Journal of Hospital Infection, 1993; 23: 83–86.

Haverkorn ML, Michel MF. *Nosocomial klebsiellas I. Colonization of hospitalized patients,* Journal of Hygiene Cambridge, 1979; 82: 177–193.

Hibbertrogers LCF, Heritage J, Gascoynebinzi DM, Hawkey PM, Todd N, Lewis IJ, Bailey C. *Molecular epidemiology of ceftazidime resistant Enterobacteriaceae from patients on a paediatric oncology ward,* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1995; 36: 65–82.

Higaki M, Chida T, Takano H, Nakaya R. *Cytotoxic component(s) of Klebsiella oxytoca on HEp-2 cells,* Microbiology and Immunology, 1990; 34: 147–151.

Highsmith AK, Jarvis WR. *Klebsiella pneumoniae: selected virulence factors that contribute to pathogenicity,* Infection Control, 1985; 6: 75–77.

Horan T, Culver D, Jarvis W, Emori G, Banerjee S, Martone W, Thornsberry C. *Pathogens causing nosocomial infections,* Antimicrobic Newsletter, 1988; 5: 65–67.

Hornick DB, Allen BL, Horn MA, Clegg S. *Adherence to respiratory epithelia by recombinant Escherichia coli expressing Klebsiella pneumoniae type 3 fimbrial gene products,* Infection and Immunity, 1992; 60: 1577–1588.

Iwahi T, Abe Y, Nakao M, Imada A, Tsuchiya K. *Role of type 1 fimbriae in the pathogenesis of ascending urinary tract infection induced by Escherichia coli,* Infection and Immunity, 1983; 39: 1307–1315.

Izard D, Ferragut C, Gavini F, Kersters K, De Ley J, Leclerc H. *Klebsiella terrigena, a new species from soil and water,* International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology, 1981; 31: 116–127.

Jacoby GA. *Antimicrobial-resistant pathogens in the 1990s,* Annual Review of Medicine, 1996; 47: 169–179.

Jacoby GA, Han P. *Detection of extended-spectrum b-lactamases in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli.* Journal of Clinical Microbiology, 1996; 34: 908–911.

Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. *Extended broad-spectrum b-lactamases conferring transferable resistance to newer b-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns,* Reviews of Infectious Diseases, 1988; 10: 867–878.

Jarvinen AK. *Treatment of urinary tract infections in the dog,* Suomen-Elainlaakarilehti, 2002; 108: 421–425.

Johanson WG, Pierce AK, Sanford JP. *Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients. Emergence of gram-negative bacilli.* New England Journal of Medicine, 1969; 281: 1137–1140.

Joiner KA. *Complement evasion by bacteria and parasites.* Annual Review of Microbiology, 1988; 42: 201–230.

Jones GW, Isaacson RE. *Proteinaceous bacterial adhesins and their receptors.* Critical Reviews in Microbiology, 1983; 10: 229–260.

Jumaa P, Chattopadhyay B. *Pseudobacteraemia with multiplyresistant Klebsiella pneumoniae resulting from contamination from the blood gas machine on a neonatal unit.* Journal of Hospital Infection, 1992; 22: 251–255.

Kabha K, Nissimov L, Athamna A, Keisari Y, Parolis H, Parolis LAS, Grue RM, Schlepper-Shafer J, Ezekowitz ARB, Ohman DE, Ofek I. *Relationships among capsular structure, phagocytosis, and mouse virulence in Klebsiella pneumoniae.* Infection and Immunity, 1995; 63: 847–852.

Karbasizaed V, Badami N, Emtiazi G. *Antimicrobial, heavy metal resistance and plasmid profile of coliforms isolated from nosocomial infections in a hospital in Isfahan, Iran.* African Journal of Biotechnology. 2003; 2(10):379-383.

Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA. *Detection of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli strains producing extended-spectrum b-lactamases,* Journal of Clinical Microbiology, 1994; 32: 691–696.

Katherine R Ball JE, Rubin M, Patricia M. *Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital.* Dowling Canine Veterinary Journal; 2008; 49:985–990

Kauffmann F. *On the serology of the Klebsiella group.* Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, 1949 ;26: 381–406.

Khimji PL, Miles AA. *Microbial iron-chelators and their action on Klebsiella infections in the skin of guinea-pigs.* British Journal of Experimental Pathology, 1978; 59: 137–147.

Kırşan İ, Akan M, Şenünver A. *Sağlıklı Dişi Köpeklerin Genital Kanalında Bakteriyel Flora Üzerinde Araştırmalar.* İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2000; 26(1): 235–241.

Kim J, Lim YM, Rheem I, Lee Y, Lee JC, Seol SY. *CTX-M and SHV-12 β -lactamases are the most common extended-spectrum enzymes in clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae collected from 3 university hospitals within Korea.* FEMS Microbiology Letters 2005; 245:93-98

Klausner JS, Osborne CA. *Urinary tract infection and urolithiasis.* Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 1979; 9: 701–711.

Kloos WE, Musselwhite MS. *Distribution and persistence of Staphylococcus and Micrococcus species and other aerobic bacteria on human skin.* Applied Microbiology, 1975; 30: 381–395.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* Lippincott, New York, Fifth Edition, 1997. pp: 171-241, 253-309, 539-566, 651-688.

Koo FCW, Stein MD. *Detection of an extracellular toxin produced by burn isolates of Klebsiella pneumoniae,* Current Microbiology, 1986; 13: 23–27.

Küçükates E, Kocazeybek B. *High resistance rate against 15 different antibiotics in aerobic gram-negative bacteria isolates of cardiology intensive care unit patients.* Indian Journal of Medical Microbiology 2002; 20(4):208-210.

Kühn I, Ayling-Smith B, Tullus K, Burman LG. *The use of colonization rate and epidemic index as tools to illustrate the epidemiology of faecal Enterobacteriaceae strains in Swedish neonatal wards.* Journal of Hospital Infection, 1993; 23: 287–297.

Legakis NJ, Maniatis A, Tzouvelekis LS. *Prevalent mechanisms of resistance among common enterobacterial isolates in Greek hospitals.* Microbial Drug Resistance, 1995; 1: 331–333.

Ling GV. *Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the canine urinary tract.* Journal of American Veterinary Medical Association 1984; 185: 1162–1164.

Livermore DM. *β -lactamases in laboratory and clinical resistance.* Clinical Microbiology Reviews; 1995; 8:557-84

Livermore DM Williams JD. *Mode of action and mechanism of bacterial resistance, In: Lorian M (ed.). Antibiotics in Laboratory Medicine.* New York. Williams and Wilkins, 1996; 502-578

Lock R, Dahlgren C, Linden M, Stendahl O, Svensbergh A, Öhman L. *Neutrophil killing of two type 1 fimbria-bearing Escherichia coli strains: dependence on respiratory burst activation,* Infection and Immunity, 1990; 58: 37–42.

Lucet JC, Chevret S, Decre D, Vanjak D, Macrez A, Bedos JP, Wolff M, Regnier B. *Outbreak of multiply resistant enterobacteriaceae in an intensive care unit: Epidemiology and risk factors for acquisition.* Clinical Infectious Diseases, 1996; 22: 430–436.

Lye WC, Chan RKT, Lee EJC, Kumarasinghe G. *Urinary tract infections in patients with diabetes mellitus*, Journal of Infection, 1992; 24: 169–174.

Maayan MC, Ofek I, Medalia O, Aronson M. *Population shift in mannose-specific fimbriated phase of Klebsiella pneumoniae during experimental urinary tract infection in mice*. Infection and Immunity, 1985; 49: 785–789.

Manchanda V, Singh NP, Goyal R, Kumar A, Thukral SS. *Phenotypic characteristics of clinical isolates of Klebsiella pneumoniae & evaluation of available phenotypic techniques for detection of extended spectrum betalactamase*. Indian Journal of Medical Research 2005; 122:330-337.

Mandine E, Salles MF, Zalisz R, Guenounou M, Smets P. *Murine monoclonal antibodies to Klebsiella pneumoniae protect against lethal endotoxemia and experimental infection with capsulated K. pneumoniae*. Infection and Immunity, 1990; 58: 2828–2833.

Mangan DF, Snyder IS. *Mannose-sensitive stimulation of human leucocyte chemiluminescence by Escherichia coli*, Infection and Immunity, 1979; 26: 1014–1019.

Martin CM, Ikari NS, Zimmerman J, Waitz JA. *A virulent nosocomial Klebsiella with a transferable R factor for gentamicin: emergence and suppression*. Journal of Infectious Diseases, 1971; 124(Suppl.): S24–S29.

Martinez JL, Cercenado E, Baquero F, Perez-Diaz JC, Delgado- Iribarren A. *Incidence of aerobactin production in gram-negative hospital isolates*, FEMS Microbiology Letters, 1987; 43: 351–353.

Matsen JM, Spindler JA, Blosser RO. *Characterization of Klebsiella isolates from natural receiving waters and comparison with human isolates*, Applied Microbiology, 1974; 28: 672–678.

McCallum KL, Schoenhals G, Laakso D, Clarke B, Whitfield C. *A high-molecular-weight fraction of smooth lipopolysaccharide in Klebsiella serotype O1:K20 contains a unique O-antigen epitope and determines resistance to nonspecific serum killing*. Infection and Immunity, 1989; 57: 3816–3822.

Medeiros AA. *Nosocomial outbreaks of multiresistant bacteria— extended-spectrum beta-lactamases have arrived in North America*, Annals of Internal Medicine, 1993; 119: 428–430.

Merino S, Camprubi S, Alberti S, Benedi VJ, Tomas JM. *Mechanisms of Klebsiella pneumoniae resistance to complement-mediated killing*. Infection and Immunity, 1992; 60: 2529–2535.

Miles AA, Khimji PL. *Enterobacterial chelators of iron: their occurrence, detection, and relation to pathogenicity*. Journal of Medical Microbiology, 1975; 8: 477–490.

Minami J, Katayama SI, Matsushita O, Sakamoto H, Okabe A. *Enterotoxin activity of Klebsiella oxytoca cytotoxin in rabbit intestinal loops*, Infection and Immunity, 1994; 62: 172–177.

Mizuta K, Ohta M, Mori M, Hasegawa T, Nakashima I, Kato N. *Virulence for mice of Klebsiella strains belonging to the O1 group: relationship to their capsule (K) types*, Infection and Immunity, 1983; 40: 56–61.

Mobley HLT, Chippendale GR, Tenney JH, Mayrer AR, Crisp LJ, Penner JL, Warren JW. *MR/K hemagglutination of Providencia stuartii correlates with adherence to catheters and with persistence in catheter-associated bacteriuria*, Journal of Infectious Diseases, 1988; 157: 264–271.

Montgomerie JZ. *Epidemiology of Klebsiella and hospital-associated infections*. Review of Infectious Diseases, 1979; 1: 736–753.

Mori M, Ohta M, Agata N, Kido N, Arakawa Y, Ito H, Komatsu T, Kato N. *Identification of species and capsular types of Klebsiella clinical isolates, with special reference to Klebsiella planticola*. Microbiology and Immunology, 1989; 33: 887–895.

Nassif X, Sansonetti PJ. *Correlation of the virulence of Klebsiella pneumoniae K1 and K2 with the presence of a plasmid encoding aerobactin*. Infection and Immunity, 1986; 54: 603–608.

Nouvellon M, Pons JL, Sirot D, Combe ML, Lemeland JF. *Clonal outbreaks of extended-spectrum β -lactamase-producing strains of Klebsiella pneumoniae demonstrated by antibiotic susceptibility testing, β -lactamase typing, and multilocus enzyme electrophoresis*. Journal of Clinical Microbiology, 1994; 32: 2625–2627.

Ofek I, Beachey EH. *Mannose binding and epithelial cell adherence of Escherichia coli*, Infection and Immunity, 1978; 22: 247–254.

Ofek I, Doyle RJ. *Bacterial adhesion to cells and tissues*. Chapman and Hall, Ltd, London, United Kingdom. 1994.

Ofek I, Goldhar J, Keisari Y. *Nonopsonic phagocytosis of microorganisms*, Annual Review of Microbiology, 1995; 49: 239–276.

Ofek I, Kabha K, Athamna A, Frankel G, Wozniak DJ, Hasty DL, Ohman DE. *Genetic exchange of determinants for capsular polysaccharide biosynthesis between Klebsiella pneumoniae strains expressing serotypes K2 and K21a*, Infection and Immunity. 1993; 61: 4208–4216.

Old DC, Tavendale A, Senior BW. *A comparative study of the type-3 fimbriae of Klebsiella species*. Journal of Medical Microbiology, 1985; 20: 203–214.

Old DC, Adegbola RA. *Antigenic relationships among type-3 fimbriae of Enterobacteriaceae revealed by immunoelectronmicroscopy*. Journal of Medical Microbiology, 1985; 20: 113–121.

Olling S. *Sensitivity of gram-negative bacilli to the serum bactericidal activity: a marker of the host parasite relationship in acute and persisting infections*. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 1977; 10(Suppl.): 1–40.

Opal S, Cross A, Gemski P. *K antigen and serum sensitivity of rough Escherichia coli.* Infectious Immunology, 1982; 37: 956–960.

Ørskov I. *O antigens in the Klebsiella group.* Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, 1954; 4: 145–156.

Ørskov I, Ørskov F. *Serotyping of Klebsiella.* Methods in Microbiology, 1984; 14: 143–164.

Ørskov I, Fife-Asbury MA. *New Klebsiella capsular antigen, K82, and the deletion of five of those previously assigned.* International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology, 1977; 27: 386–387.

Osborne CA, Lulich JP, Polzin DJ, Allen TA, Kruger JM, Bartges JW, Koehler LA, Ulrich LK, Bird KA, Swanson LL. *Medical dissolution and prevention of canine struvite urolithiasis: twenty years of experience.* Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 1999; 29: 73–111.

Osborne CA, Lulich JP, Unger LK, Bartges JW, Felice LJ. *Canine and feline urolithiasis: relationship of etiopathogenesis with treatment and prevention.* M. J. Bojrab, Lea and Febiger (eds), *Disease Mechanisms in Small Animal Surgery.* 1993. pp. 476- 478, Philadelphia.

Ottow JCG. *Ecology, physiology, and genetics of fimbriae and pili.* Annual Review of Microbiology, 1975; 29: 79–108.

Öhman L, Magnusson KE, Stendahl O. *Mannose-specific and hydrophobic interaction between Escherichia coli and polymorphonuclear leucocytes influence of bacterial culture period.* Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica Sect B, 1985; 93: 125–131.

Özgür NY, Bağcıgil FA, İkiz S. *Metritisli Kısıraklardan ve Aygırlardan Klebsiella pneumoniae İzolasyonu, Kapsül Tiplerinin ve Biyotiplerinin Belirlenmesi.* Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 2003; 27: 241–247.

Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. *Origin and impact of plasmid mediated extended-spectrum beta-lactamases.* European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1994; 13(Suppl 1): 17-29

Pieroni P, Rennie RP, Ziola B, Deneer HG. *The use of bacteriophages to differentiate serologically cross-reactive isolates of Klebsiella pneumoniae.* Journal of Medical Microbiology, 1994; 41: 423–429.

Pittet D, Li N, Wenzel RP. *Association of secondary and polymicrobial nosocomial bloodstream infections with higher mortality.* European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1993; 12: 813–819.

Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella capsular type K7 in relation to toxicity, susceptibility to phagocytosis and resistance to serum.* Journal of Medical Microbiology, 1992; 36: 250–254.

Podschun R, Fischer A, Ullmann U. *Siderophore production of Klebsiella species isolated from different source.,* Zentral Bakteriell, 1992; 276: 481–486.

Podschun R, Ullmann U. *Isolation of Klebsiella terrigena from clinical specimens.* European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases, 1992; 11: 349–352.

Podschun R, Ullmann U. *Bacteriocin typing of environmental Klebsiella isolates.* Zentral Bakteriell Umweltmed, 1993; 195: 22–26.

Podschun R, Ullmann U. *Incidence of Klebsiella planticola among clinical Klebsiella isolates.* Medical Microbiology Letters, 1994; 3: 90–95.

Podschun R, Ullmann U. *Bacteriocin typing of Klebsiella spp. isolated from different source.* Zentral Bakteriell Umweltmed, 1996; 198: 258–264.

Podschun R, Penner I, Ullmann U. *Interaction of Klebsiella capsule type 7 with human polymorphonuclear leucocytes.* Microbial Pathology, 1992; 13: 371–379.

Podschun R, Heineken P, Sonntag HG. *Hemagglutinins and adherence properties to HeLa and Intestine 407 cells of Klebsiella pneumoniae and Klebsiella oxytoca isolates.* Zentral Bakteriell Mikrobiol Hyg Ser A, 1987; 263: 585–593.

Podschun R, Heineken P, Ullmann U, Sonntag HG. *Comparative investigations of Klebsiella species of clinical origin: plasmid patterns, biochemical reactions, antibiotic resistances and serotypes.* Zentral Bakteriell Mikrobiol Hyg Ser. A, 1986; 262: 335–345.

Poh CL, Yap SC, Yeo M. *Pulsed-field gel electrophoresis for differentiation of hospital isolates of Klebsiella pneumoniae.* Journal of Hospital Infection, 1993; 24: 123–128.

Pollack M, Niemann RE, Reinhardt JA, Charache P, Jett MP, Hardy PH. 1972 *Factors influencing colonisation and antibiotic resistance patterns of gram-negative bacteria in hospital patients.* Lancet, ii: 668–671.

Przondo-Hessek A. *Bacteriophages of Klebsiella bacilli. Isolation properties and use in typing.* Arch Immunology and Therapy Experience, 1966; 14: 413–435.

Ramm LE, Whitlow MB, Mayer MM. *Size distribution and stability of the trans-membrane channels formed by complement complex C5b-9,* Molecular Immunology, 1983; 20: 155–160.

Reinhardt HH, Obedeanu N, Sobel JD. *Quantitation of Tamm-Horsfall protein binding to uropathogenic Escherichia coli and lectins,* Journal of Infectious Diseases, 1990; 162: 1335–1340.

Reissbrodt R, Rabsch W. *Further differentiation of Enterobacteriaceae by means of siderophore-pattern analysis.* Zentral Bakteriell Mikrobiol Hyg Ser A, 1988; 268: 306–317.

Rennie RP, Duncan IBR. *Combined biochemical and serological typing of clinical isolates of Klebsiella.* Applied Microbiology, 1974; 28: 534–539.

Roantree RJ, Rantz LA. *A study of the relationship of the normal bactericidal activity of human serum to bacterial infection.* Journal of Clinical Investigation, 1960; 39: 72–81.

Robert DE, McClain HM, Hansen DS, Currin P, Howerth EW. *An Outbreak of Klebsiella pneumoniae infection in dogs with severe enteritis and septicemia.* Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2000; 12: 168–173.

Rodriguez-Ortega M, Ofek I, Sharon N. *Membrane glycoproteins of human polymorphonuclear leucocytes that act as receptors for mannose-specific Escherichia coli.* Infection and Immunity, 1987; 55: 968–973.

Rose HD, Schreier J. *The effect of hospitalization and antibiotic therapy on the gram-negative fecal flora,* American Journal of Medical Science, 1968; 255: 228–236.

Rosebury T. *Microorganisms indigenous to man.* McGraw Hill Book Co, New York. 1962.

Rubin SJ. *Klebsiella marker systems.* Infection Control, 1985; 6: 59–63.

Ruby AL, Ling GV. *Bacterial culture of uroliths: techniques and interpretation of results.* Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 1986; 16: 325–331.

Sakazaki R, Tamura K, Kosako Y, Yoshizaki E. *Klebsiella ornithinolytica sp. nov., formerly known as ornithine-positive Klebsiella oxytoca.* Current Microbiology, 1989; 18:201–206.

Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. *Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection.* American Journal of Medicine, 1991; 91: 72S–75S.

Schaechter M, Medoff G, Eisenstein BI. *Mechanisms of microbial disease.* 2nd ed. The Williams and Wilkins Co, Baltimore. 1993.

Selden R, Lee S, Wang WL, Bennett JV, Eickhoff TC. *Nosocomial Klebsiella infections: intestinal colonization as a reservoir.* Annals of Internal Medicine, 1971; 74: 657–664.

Sharon N, Ofek I. *Mannose specific bacterial surface lectins.* D. Mirelman (eds), *Microbial lectins and agglutinins.* John Wiley and Sons, Inc, 1986. p. 55–81, New York.

Shortliffe LD, Spigelman SS. *Infectionstones.* Urology Clinics of North America, 1986; 13: 717–726.

Simoons-Smit AM, Verweij-van Vught AMJJ, MacLaren DM. *Virulence of Klebsiella strains in experimentally induced skin lesions in the Mouse.* Journal of Medical Microbiology, 1984; 17: 67–77.

Simoons-Smit AM, Verweij-van Vught AMJJ, Kanis IYR, MacLaren DM. *Biochemical and serological investigations on clinical isolates of klebsiella.* Journal of Hygiene Cambridge, 1985; 95: 265–276.

Sirot D. *Extended-spectrum plasmid-mediated beta-lactamases.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1995; 36: 19–34.

Slopek S. *Phage typing of Klebsiella.* Methods of Microbiology, 1978; 11: 193–222.

Smith JMB, Chambers ST. *Klebsiella oxytoca* revealing decreased susceptibility to extended spectrum beta-lactams. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1995; 36: 265–267.

Stamm WE, Weinstein RA, Dixon RE. *Comparison of endemic and epidemic nosocomial infections*, R. E. Dixon (eds) *Nosocomial infections*. Yorke Medical Books, 1981; p. 9–13. Atlanta.

Stenzel W, Bürger H, Mannheim W. *Zur Systematik und Differentialdiagnostik der Klebsiella-Gruppe mit besonderer Berücksichtigung der sogenannten Oxytocum-Typen*, Zentral Bakteriell Hyg Ser A, 1972; 219: 193–203.

Stock I, Wiedemann B. *Natural antibiotic susceptibility of Klebsiella pneumoniae, K. oxytoca, K. planticola, K. ornithinolytica and K. terrigena strains*. *Journal of Medical Microbiology*, 2001; 50: 396–406.

Stone EA, Barsanti JA. *Abnormal urine output and voiding*. Stone EA and Barsanti JA (eds), *Urological Surgery of the Dog and Cat*. Lea and Febiger, 1992. pp 11–15, Philadelphia.

Stürenburg E, Mack D. *β -lactamases: Implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control*. *Journal of Infection*; 2003; 47:273-95.

Tarkkanen AM, Allen B, Westerlund B, Holthöfer H, Kuusela P, Risteli L, Clegg S, Korhonen TK. *Type V collagen as target for type-3 fimbriae, enterobacterial adherence organelles*. *Molecular Microbiology*, 1990; 4: 1353–1361.

Taylor PW. *Bactericidal and bacteriolytic activity of serum against gram-negative bacteria*. *Microbiology Reviews*, 1983; 47: 46–83.

Taylor PW, Kroll HP. *Effect of lethal doses of complement on the functional integrity of target enterobacteria*. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 1985; 121: 135–158.

Thompson RB, Stamey TA. *Bacteriology of infected Stones*. *Urology* 1973; 2: 627–633.

Tomas JM, Camprubi S, Williams P. *Surface exposure of the O-antigen in Klebsiella pneumoniae O1:K1 serotype strains*. *Microbial Pathogenesis*, 1988; 5: 141–147.

Tullus K, Berglund B, Fryklund B, Kühn I, Burman LG. *Epidemiology of fecal strains of the family Enterobacteriaceae in 22 neonatal wards and influence of antibiotic policy*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1988; 26: 1166– 1170.

Ullmann U. *Pattern of microbial isolates in hospitalized patients*. Zentral Bakteriell Hyg Ser B, 1986; 183: 103–113.

Ulutürk R, Soysal HF, Boztas Z, Ünlüer E, Toktaş G, Gürbüz C.. Multirezistan *Klebsiella pneumoniae* susunun neden oldugu hastane infeksiyonu. *Klinik Derg.* 2000; 13(3):91-93

Virkola R, Westerlund B, Holthöfer H, Parkkinen J, Kekomaki M, Korhonen TK. *Binding characteristics of Escherichia coli adhesins in human urinary bladder*. *Infection and Immunity*, 1988; 56: 2615–2622.

Vosti KL, Randall E. *Sensitivity of serologically classified strains of Escherichia coli of human origin to the serum bactericidal system.* American Journal of Medical Science, 1970; 259: 114–119.

Waldron DR. *Urinary bladder.* D. Slatter. W. B. Saunders (eds), *Textbook of Small Animal Surgery*. 1993. pp. 1458–1462. Philadelphia.

Williams P, Tomas JM. *The pathogenicity of Klebsiella pneumoniae.* Reviews of Medical Microbiology, 1990; 1: 196–204.

Williams P, Smith MA, Stevenson P, Griffiths E, Tomas JMT. *Novel aerobactin receptor in Klebsiella pneumoniae.* Journal of Genetic Microbiology, 1989; 135: 3173–3181.

Williams P, Lambert PA, Brown MRW, Jones RJ. *The role of the O and K antigens in determining the resistance of Klebsiella aerogenes to serum killing and phagocytosis.* Journal of Genetic Microbiology, 1983; 129: 2181–2191.

Wooldridge KG, Williams PH. *Iron uptake mechanisms of pathogenic bacteria* FEMS Microbiology Reviews, 1993; 12: 325–348.

Yancey RJ, Breeding SAL, Lankford CE. *Enterochelin (enterobactin): virulence factor for Salmonella typhimurium.* Infection and Immunity, 1979; 24: 174–180.

Yinnon AM, Butnaru A, Raveh D, Jerassy Z, Rudensky B. *Klebsiella bacteremia: community versus nosocomial infection.* Monthly Journal Associations, 1996.

Yokochi T, Nakashima I, Kato N. *Effect of capsular polysaccharide of Klebsiella pneumoniae on the differentiation and functional capacity of macrophages cultured in vitro,* Microbiology and Immunology, 1977; 21: 601–610.

Yokochi T, Nakashima I, Kato N. *Further studies on generation of macrophages in in vitro cultures of mouse spleen cells and its inhibition by the capsular polysaccharide of Klebsiella pneumoniae.* Microbiology and Immunology, 1979; 23: 487–499.

Yokochi T, Inoue Y, Kato Y, Sugiyama T, Jiang GZ, Kawai M, Fukada M, Takahashi K. *Strong adjuvant action of Klebsiella O3 lipopolysaccharide and its inhibition of systemic anaphylaxis.* FEMS Immunology and Medical Microbiology, 1995; 10: 181–184.

Yuan M, Hall LMC, Savelkoul PHM, Grauls CMJ, Livermore DM. *β -lactamase, in Klebsiella pneumoniae isolates from patients in an intensive care unit in Amsterdam.* Antimicrobiological Agents and Chemotherapy, 2000; 44(4):1081-1084.

ÖZGEÇMİŞ

Andaç UZER GÜLEN 1983 yılında Ankara'da doğdu. İlköğrenimi Manisa Gazi İlköğretim Okulu'nda, orta ve lise öğrenimini İzmir Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2001 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesi'nden 2006 yılında mezun oldu. Ekim 2007'den bu yana, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimini sürdürmektedir. Şubat 2007 ile Mayıs 2010 tarihleri arasında İzmir Karşıyaka Belediyesi Veteriner İşleri Müdürlüğü'nde Veteriner Hekim olarak görev yaptı. 2010 yılı Haziran ayından beri Antalya Büyükşehir Belediyesi Sağlık İşleri Dairesi Başkanlığı Veteriner İşleri Şube Müdürlüğü'nde, Veteriner Hekim olarak görevini sürdürmektedir. Evli ve yabancı dil olarak “İngilizce” bilmektedir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımda desteğini aldığım danışmanım Doç. Dr. Şükrü KIRKAN'a, çalışmalarım boyunca ilgilerini gördüğüm Prof. Dr. Osman KAYA'ya, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Araştırma görevlisi Uğur PARIN'a, materyal temininde yardımlarını esirgemeyen meslektaşım Dr. Ö. Zeyyad MISIRLIOĞLU ve Yıldız AY YİĞİT'e ve hep yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.