ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YANIK ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN KLEBSİELLA PNEUMONİAE'NİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK KARAKTERİZASYONU

Mohsin Razzaq AZEEZ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Mohsin Razzaq AZEEZ tarafından hazırlanan **"Yanık Enfeksiyonlu Olan Hastalardan İzole Edilen Klebsiella Pneumoniae'nin Fenotipik ve Genotipik Karakterizasyonu"** adlı tez çalışması 13/09/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Songül ŞAHİN

Eş Danışman : Prof. Dr. Ahmed Abdul Jabbar Jaloob ALJANABY

Jüri Üyeleri:

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Songül ŞAHİN
Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Pınar ARSLAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Pınar Ayset YILDIZ
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **"Yanık Enfeksiyonlu Olan Hastalardan İzole Edilen Klebsiella Pneumoniae'nin Fenotipik ve Genotipik Karakterizasyonu"** konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (00/00/2022).

Mohsin Razzaq AZEEZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YANIK ENFEKSİYONLU OLAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN KLEBSİELLA PNEUMONİAE'NİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK KARAKTERİZASYONU

Mohsin Razzaq AZEEZ

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Songül ŞAHİN
Eş Danışman: Prof. Dr. Ahmed Abdul Jabbar Jaloob ALJANABY

Yanık enfeksiyonu, gram negatif ve gram pozitif bakterilerin neden olduğu en önemli bakteriyel iltihaplardan olup ve *K. pneumoniae*, bu tür enfeksiyonlara neden olan en patojen etkenlerden biridir. Bu çalışmanın amacı Irak'ın Al-Najaf Şehrindeki hastalarında yanık enfeksiyonuna neden olan *K. pneumoniae'nin* fenotipik ve genotipik tespitini araştırmaktır. 1/5/2020 ile 1/12/2020 arasındaki dönemde Irak AL-Necef Valiliği'ndeki Orta Fırat Yanık Merkezi hastalarından toplam 175 yanık sürüntü çubuğu toplandı. Toplam 175 yanık sürüntü çubuğundan 103'ünde bakteri izolatı saptanmıştır. Sonuçta, toplam 103 bakteri izolatından 31'inde (%30) Pseudomonas spp, ve 23 izolatın (%22,3) *K. pneumonia* olduğunu göstermektedir. Ardından 22 izolat (% 21,4) ile *Staphylococcus spp* ve 11 izolat (% 10,6) *E.coli* olduğunu gösterilmiştir. 8 izolat (%7,8) *Acinetobacter spp*. ve 5 izolat (%4,9) *Enterobacter spp* bulunurken, en düşük prevalans Proteus spp. 3 izolatla (%3) saptanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testine göre sonuçlar *K. pneumoniae'nin* Amoksisilin ve Ceftriaxone'a karşı tam dirençli (%100) ve Amoksisilin + Klavulanik aside (%91,3) yüksek dirençli olduğunu göstermiştir. *K. pneumoniae* ise sırasıyla Cefotaxime, Ceftazidime, Tetracycline, Tobramycin ve Ciprofloxacin'e yüzde (%73,9), (%43,4), (%69,5), (%60,9) ve (%47,8) direnç gösterirken, Levofloksasin (%17,1), Gentamisin (%13) ve Amikasin'e (%4,3) karşı düşük direnç gösterilmektedir. Imipenem, 23 izolatın tümünün üremesini inhibe eden tek antibiyotiktir. Diğer yandan, Sonuçlar toplam 23 izolattan 20 izolatın (%87) çoklu ilaç direnci ve 3 izolatın (%13) yaygın ilaç direnci olduğunu kanıtlamaktadır. Pan ilaç direnci herhangi bir izolatta görülmemiştir. Çift disk sinerji testine göre genişletilmiş spektrumlu beta laktamazın fenotipik tespiti, ESBL üretebilen 14 izolat (%61) olduğunu göstermektedir. Sekiz antibiyotik direnç geninin saptanması için polimeraz zincir reaksiyonu ile bakılan genotipik metoda göre, 13 izolatın (%56,5) *tem* geni taşıdığını ve 18 izolatın (%78,2) *shv* geni için pozitif olduğunu saptanmıştır. Sonuçlar sadece 8 izolatın (%34,7) *ctxm* geni barındırdığını gösterirken, üç izolatın (%13) *oxa* geni için pozitif ve 10 izolatın (%43,7) *ampc* geni için pozitif olduğu görünmekteydi. *Veb* geni izolatların hiçbirinde bulunmadı. Diğer yandan, sonuçlarda sadece bir izolat (%4,3) *aacc1* barındırırken, *aacc2* geni ise hiçbir izolatta saptanmadı. Sonuçlar: *K. pneumoniae*, yanık enfeksiyonuna neden olan ve antibiyotiklere yüksek direnç yeteneği olan ikinci en sık nedendir. Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz *K. pneumoniae*, yanık enfeksiyonunda oldukça yaygın olup, birçok beta laktamaz genini barındırıyordu.

2022, 97 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Fenotipik, Genotipik, *K. Pneumoniae,* Antibiyotik, Irak, Türkiye, ESBL

ABSTRACT

Master of Science Thesis

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF KLEBSIELLA PNEUMONIAE ISOLATED FROM PATIENTS WITH BURN INFECTION

Mohsin Razzaq AZEEZ

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Songül ŞAHİN
Co-Advisor: Prof. Dr. Ahmed Abdul Jabbar Jaloob ALJANABY

Burn infection is one of the most important bacterial inflammations caused by gram negative and gram positive bacteria and *K. pneumoniae* is one of the most pathogen caused this type of infection. The aim of this study is to investigate the phenotypic and genotypic detection of *K. pneumoniae* that cause burn infection in hospitals patients in Al-Najaf City in Iraq. A total of 175 burn swabs from Middle Euphrates Burns Center patients in AL-Najaf Governorate Iraq have been collected during period from 1/5/2020 to 1/12/2020. The results proved that out of total 175 burn swabs there were 103 bacterial isolates. The results demonstrated that out of total 103 bacterial isolates, there were 31 isolates (30%) diagnosed as *Pseudomonas spp* and 23 isolates (22%) was *K. pneumonia* followed by *Staphylococcus spp* 22 isolates with percentages (21.4%) and 11 isolates (10.6%) was *E.coli*. While, there were 8 isolates (7.8%) was *Acinetobacter spp.* and 5 isolates (4.9%) *Enterobacter spp* the lowest prevalence isolates was *Proteus spp.* with 3 isolates (3%). According to antimicrobials sensitivity test, the results indicated that *K.pneumoniae* was full resistant (100%) against Amoxicillin and Ceftriaxone and was high resistant to Amoxicillin + Clavulanic acid (91.3%). While, *K.pneumoniae* was resistance to Cefotaxime, Ceftazidime, Tetracycline, Tobramycin and Ciprofloxacin with percentage (73.9%), (43.4%), (69.5%), (60.9%) and (47.8%) respectively. While, there was low resistance against Levofloxacin (17.1%), Gentamicin (13%) and Amikacin (4.3%). Imipenem is the only antibiotic inhibited growth of all 23 isolates. On the other hand, the results proved that out of total 23 isolates, there were 20 isolates (87%) were multidrug resistance and 3 isolates (13%) extensive drug resistance. While, there was no any isolate was pan drug resistance. Phenotypic detection of extended spectrum beta lactamase according to Double Disc Synergy test demonstrated that there were 14 isolates (61%) capable of production of ESBL. According to genotypic method to detection of eight antibiotic resistance genes by polymerase chain reaction, the results proved that there were 13 isolates (56.5%) were carried *tem* gene and 18 isolates (78.2%) were positive for *shv* gene. While, the results indicated that there were only 8 isolates (34.7%) were harbored *ctxm* gene, three isolates (13%) were positive for *oxa* gene and10 isolates (43.7%) positive for *ampc* gene. While, there was no any isolate was carried *veb* gene. On the other hand, the results showed that only one isolate (4.3%) was harbored *aacc1* while there was no any isolates was positive to *aacc2* gene. Conclusions: *K. pneumoniae* is a second causative agent that causes burn infection and has high ability to resistant antibiotics. Extended spectrum beta lactamase *K. pneumoniae* was highly prevalence in burn infection and harbored many beta lactamase genes.

2022, 97 pages

Keywords: Phenotypic, Genotypic, *K. Pneumoniae*, Antibiotic, Iraq, Turkey, ESBL

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışma konumun belirlenmesinde, planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Songül ŞAHİN, çalışmalarım anında manevi desteğini esirgemeyen her zaman yanımda olan annem, babam, erkek ve kız kardeşlerime saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım anında manevi desteğini esirgemeyen her zaman yanımda olan arkadaşlarım saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Mohsin Razzaq AZEEZ

Çankırı, Ocak 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **4**
2.1 Yanıklar **4**
2.1.1 Yanık türleri **5**
2.1.2 Yanık epidemiyolojisi **5**
2.1.3 Yanık yara enfeksiyonuna neden olan organizmalar **6**
2.2 *Klebsiella Pnömonisi* **8**
2.2.1 Tarih **8**
2.2.2 Açıklama ve taksonomi **9**
2.2.3 Epidemiyoloji **10**
2.2.4 Transmisyon ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
2.2.5 Klebsiella pnömonisinin patojenitesi **12**
2.2.6 Virülans faktörleri **13**
2.2.7 K. pnömoni tiplemesi **14**
2.3 Antibiyotik Direnci **15**
2.3.1 Çoklu ilaca dirençli klebsiella pnömonisi **16**
2.3.2 Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten klebsiella pnömonisi **17**
2.4 Beta-Laktamaz Genleri **20**
2.5 Çoklu İlaç Direncini Kodlayan Gen Klebsiella Pneumoniae **25**
2.6 Teşhis Yöntemleri **27**
2.7 ESBL İçin Algılama Yöntemleri **27**
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER **29**

3.1 Materyaller 29
3.1.1 Aletler ve ekipmanlar 29
3.1.2 Biyolojik ve kimyasal malzemeler 29
3.1.3 Bu çalışma tablosunda kullanılan üreticinin besiyeri 30
3.1.4 Bu çalışmada kullanılan antibiyotik CD'si 30
3.1.5 Polimeraz zincir reaksiyonunun malzemeleri 31
3.2 Çözeltiler ve Reaktifler 32
3.2.1 McFarland standardı (0,5) 32
3.2.2 Üre çözeltisi 32
3.2.3 Kullanıma hazır reaktifler 32
3.3 Kültür Ortamı 33
3.3.1 Hareketlilik ortamı 33
3.3.2 Kanlı agar besiyeri 33
3.3.3 Üre agar besiyeri 33
3.4 Yöntemler 34
3.4.1 Çalışma tasarımı 34
3.4.2 Örneklerin toplanması 35
3.4.3 Klebsiella pneumoniae'nin tanımlanması 36
3.4.4 Bakteriyel izolatların depolanması 39
3.4.5 Antibiyotik duyarlılığı testi 39
3.4.6 Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üretimi için test Birincil test 40
3.4.7 Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz için doğrulama testi 40
3.4.8 *K.pneumoniae* izolatlarında genlerin moleküler tanımlanması 41
3.5 İstatistiksel Analiz 43
4. BULGULAR 44
4.1 Toplam Örnekler 44
4.2 Toplam Bakteri İzolatları 44
4.3 Antibiyotik Duyarlılık Testi 47
4.4 Antibiyotik Direnci İle İlişkili Genlerin Moleküler Tespiti 50
5. TARTIŞMA 54
5.1 Çalışma Örneklerinin Açıklaması 54

5.2 Bakteri İzolatlarının Tanımlanması 55
5.3 Antimikrobiyal Duyarlılık Testi 56
5.4 Genişletilmiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Üretimi 61
5.5 Antimikrobiyal Direnç Genlerinin Moleküler Tespiti 63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 67
KAYNAKLAR 68
ÖZGEÇMİŞ 97

SİMGELER DİZİNİ

µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
3rd	Nesil sefalosporin
$C_{10}H_8O$	Naftol –α
G	Gram
G-	Negatif
G+	Pozitif
H_2O	Su
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HCL	Hidroklorik asit
mg	Miligram
mL	Mililitre
NaCl	Sodyum klorür
U	Ünite

KISALTMALAR DİZİNİ

AK	Amikasin
AMC	Amoksisilin + Klavulanik asit
AX	Amoksisilin
BP	Baz çiftleri
CAZ	Seftazidim
CFU/Liter	Litre başına koloni oluşturan birim
CIP	Ciprofloksasin
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CRO	Seftriakson
DNA	Deoksiribonükleik asit
E. Coli	*Escherichia coli*
EC	Enzimatik komisyon
ESBL	Genişletilmiş spektrumlu β –Laktamlar
FOX	MPEC enzimi sefoksitin üzerinde etkilidir
HCL	Hidroklorik asit
HGT	Yatay gen transferi
IMP	Imipenem
K. pneumonia	*Klebsilla pneumonia*
K-antijen	Kapsüler antijen
LEV	Levofloksasin
LPS	Lipopolisakkarit
MDR	Çoklu ilaç direnci
O-antijen	Somatik antijen (O spesifik zincir)
Oxa	Oksasilinaz, –Laktamaz oksasilin
PABLs	Plazmid aracılı ampc, β –Laktamazlar
PBS	Penisilin bağlayıcı protein
PCR	Polimeraz zincirleme reaksiyonu
PDR	Kapsamlı ilaç direnci
Shv	Sülfhidril değişken b-laktamaz
Spp	Türler
TBE buffer	Tris borat-EDTA tamponu
TBO	Tobramisin
TE	Tetrasiklin
TE buffer	Tris-EDTA Tamponu
Tem	β -Laktamaz, Temarian'dan izole edilen
Veb	Vietnam genişletilmiş spektrumlu β –laktamaz
XDR	Kapsamlı ilaç direnci

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Mevcut çalışmanın tasarımını göstermektedir 34
Şekil 3.2 Yanık enfeksiyonu olan hastalar 35
Şekil 4.1Yanık enfeksiyonlu hastalardan izole edilen toplam yanık sürüntülerinin sayıları ve yüzdeleri 44
Şekil 4.2 Yanık enfeksiyonlu hastalardan alınan toplam bakteri izolatlarının sayıları ve yüzdeleri 45
Şekil 4.3 Klebsiella pneumonia'nın tek metâlik yeşil kolonileri, 24 saat 37°C'de krom agar üzerine 46
Şekil 4.4 K.pneumoniae'nin 23 izolatının direnç türü sayıları ve yüzdeleri 48
Şekil 4.5 Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz üretiminin fenotipik testi 49
Şekil 4.6 Çift Disk Sinerji Testi ile K.pneumoniae için ESBL'nin fenotipik doğrulama testi 49
Şekil 4.7 Yanık enfeksiyonlu hastalardan izole edilen K.pnömonide antibiyotik direnci ile ilişkili genlerin sayıları ve yüzdeleri 50
Şekil 4.8 Tanısal tem geni ile amplifiye edilmiş klebsiella pneumoniae'nin ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 643 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)..... 50
Şekil 4.9 Tanısal shv geni ile amplifiye edilmiş Klebsiella pneumonia'nın ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 714 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)..... 51
Şekil 4.10 Tanısal ctxm geni ile güçlendirilmiş klebsiella pneumoniae'nin ekstrakte edilmiş toplam dna'sından PCR ile güçlendirilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 766 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)..... 51
Şekil 4.11 Tanısal oxa geni ile amplifiye edilmiş klebsiella pneumonia'nın ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 618 bp'de pozitif sonuçlar gösterir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)..... 52
Şekil 4.12 Tanısal ampc geni ile amplifiye edilmiş klebsiella pneumoniae'nin ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 550 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)..... 52

Şekil 4.13 Tanısal aacc1 geni ile amplifiye edilmiş klebsiella pneumoniae'nin ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 873 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)..... 53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Yanık yaralarını kolonize eden ve enfekte eden en yaygın mikroorganizmaları listesi (AL-Aali 2016) 8
Çizelge 3.1 Aletler ve cihazlar 29
Çizelge 3.2 Bu çalışmada kullanılan farklı malzemeler 29
Çizelge 3.3 Bu çalışmada kullanılan üreticinin besiyeri 30
Çizelge 3.4 Bu test için kullanılan antibiyotik CD'sini Bioanalyse (Türkiye) şirketi tarafından verilmektedir 30
Çizelge 3.5 Moleküler Ağırlıklı DNA Markörü ve Ana Karışım 31
Çizelge 3.6 Bu araştırmada kullanılan primerleri gösterir 31
Çizelge 3.7 Üçlü Şekerli Demir (TSI) Testi Sonuçları 38
Çizelge 3.8 PCR ısıl döngü koşulları hizmetleri 42
Çizelge 4.1 Cinsiyete göre toplam bakteri izolatlarının sayıları 45
Çizelge 4.2 23 K. pneumoniae izolatının morfolojik ve biyokimyasal testleri 46
Çizelge 4.3 23 Klebsiella pneumoniae izolatının antibiyotik duyarlılık testi 47

1. GİRİŞ

Yanık yaralanmaları hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde halk sağlığı açısından önemlidir. İşlevsel sakatlık, ciddi yara izi ve etkilenen vücut parçasının kontraktürleri gibi çeşitli komplikasyonlarla ilişkilidir (Jeschke *et al.* 2020). Yanık yaralanmaları cildi büyük ölçüde etkiler. Haşlanma (sıcak sıvılar), alev, radyasyon, açık alev, enerji ve sıcak su şişelerinin tümü yanık nedenleridir (Hansen *et al.* 2019, Jeschke *et al.* 2020). Yanıklar dünya çapında önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir (Hunter *et al.* 2020).

Fırsatçı patojen *K. pneumoniae*, özellikle çocuklarda hastane enfeksiyonlarının yaygın bir nedenidir, bakteriler pnömoni, menenjit, sepsis, ishal ve bakteriyemi nedenidir (Neog *et al.* 2021, Oraibi and Al-Azawi 2021).

Hastane kaynaklı enfeksiyonlar dahil yanık enfeksiyonu, deri, nihayetinde üreme yolu, idrar yolu enfeksiyonları, kan, gastrointestinal yumuşak doku ve solunum yolu enfeksiyonları en önemli hastaneye yatış nedeni olarak kabul edilmektedir (Monegro *et al.* 2020).

Çoklu ilaca dirençli patojenik bakterilerin varlığı, hastane kaynaklı enfeksiyonların etkisini artırır (El-Mokhtar *et al.* 2021). Enfeksiyon, yanık hastalarının kabulden sonra en sık görülen komplikasyonudur ve daha yüksek morbidite ve mortaliteye yol açar (Navon-Venezia *et al.* 2017). *K. pneumoniae* yanık yaralarında en yaygın bakterilerden biridir (Sharahi *et al.* 2020). *K. pneumoniae* yanıkların patojeni olup Pseudomonas'tan sonra ikinci sıradadır. *Klebsiella* enfeksiyonları şimdi her zamankinden daha yaygın (Emami *et al.* 2020). Bunun nedeni bakterilerin antibiyotik direnci olabilir. Plazmit, ampisilin ve karbenisilin gibi antibiyotiklere dirençlidir. Daha da kötüsü, R plazmidi, aynı tür olması gerekmeyen diğer enterik bakterilere aktarılabilir (Mukaya 2020).

Hem hastanelerde hem de genel popülasyonda yüksek prevalans dağılımlarına sahip çoklu ilaca dirençli bakteriler ve ESBL, *K. pneumoniae* ve diğer Gram-Negatif

bakterileri çoğaltır (Legese *et al.* 2017). Tem ve *ctx-m,* bla genleri de dahil olmak üzere, dünya çapında neredeyse 390 farklı ESBL formu tanınmıştır (Barguigua *et al.* 2011). Dahası, beta-laktam, sefalosporin, aminoglikozitler gibi çeşitli antimikrobiyal ilaçlara MDR ve ESBL geliştiren *K. pneumoniae* izolatları, hastanelerde ve ayakta tedavi gören hastalarda bakım kaybına neden olur (Tang *et al.* 2017).

K. pneumoniae gibi gram negatif bakteriler, dünyada ciddi bulaşıcı hastane hastalıklarına yakalanma olasılığını önemli ölçüde artırdı (Oraibi and Al-Azawi 2021). *Tem* ve *shv*-enzim genleri, aminoglikozid direnci de dahil olmak üzere tekrarlayan direnç faktörlerine sahip transfer edilebilir plazmitler üzerinde bulunur ve artan β-laktam direnci insidansı ve proliferasyonu, bu tür plazmitlerin dağılımından kaynaklanmaktadır (Shinu *et al.* 2020).

K. pneumoniae tarafından üretilen ctx-m enzimi, *K. pneumoniae* üreten ctx-m enzimlerinin yatay iletiminden ve klonal dağılımından da sorumludur (Nachimuthu *et al.* 2020). Ayrıca, İYE'ye neden olan çoklu ilaca dirençli *K. pneumoniae'de ctx-m* ile virülans genlerinin birleştirilmesi, bu patojenin neden olduğu enfeksiyonları kötüleştirebilir ve etkili tedaviyi zorlaştırabilir (Derakhshan *et al.* 2015).

Bugüne kadar, birkaç tip aminoglikozit değiştirici enzim vardır, Aminoglikozit-inaktive edici enzimlerin oluşturduğu direnç, hem konjugatif olan ve olmayan plazmitler hem de herhangi bir mobil element üzerinde kodlanabilir. Böyle dirençler artan direnç seviyelerine yol açan nokta mutasyonların kromozomal olarak kodlanabildiğinin kanıtı olabilir (Tawfick *et al.* 2020).

D Sınıfı laktamazlara oksasilinazlar veya oksa-laktamazlar da denir, çünkü oksalik asidi benzilpenisiline göre daha verimli bir şekilde hidrolize etme yeteneğine sahiptirler (Hammoudi Halat and Ayoub Moubareck 2020). Oksa enzimi, serinin aktif bölgesini aktive etmek ve sabitlemek için bu karbamatize edilmiş lisini kullanır, su moleküllerinin deasile edilmesi yolundaki sterik engeli ortadan kaldırır, daha sıkı bağlanma ve hidrolize daha etkili β-laktam reaktifleri ile sonuçlanır (Bonomo 2017).

Birçok Enterobactericeae bakterisi, özellikle *K. pneumoniae*, kromozomlarında ve klinik olarak esansiyel sefalosporinazlar olan plazmitlerinde kodlanmış AmpC-laktamazlara sahiptir (Etemadi *et al.* 2020). Sefamisinler (CMY), sefoksitin (FOX) ve moksalaktam (MOX) veya latamoksefe (LAT) karşı direnç geliştiren AmpC'ler belirsiz karakterde –laktamazlar olarak adlandırılır (Soltani *et al.* 2020).

GES, VEB, PER ve IBC-laktamazlar gibi plazmitlerin aracılık ettiği diğer ESBL'ler tanımlanmıştır, ancak nadirdir, esas olarak Pseudomonas aeruginosa'da ve az sayıda coğrafi bölgede meydana gelir (Kothari *et al.* 2020). Bla-VEB alt grubu, A sınıfı β-laktamazların daha sınırlı alt gruplarından biridir. Bla-VEB enzimleri, K. pneumonia, P. aeruginosa, A. baumannii ve diğer Enterobacteriaceae spp. gibi fermente olmayan organizmalarda bol olma eğilimindedir ve çoğalma hızları giderek artmaktadır (Al-Ouqaili *et al.* 2020).

Bu çalışmanın amacı, hastanede yatan hastalarda etken olarak *K. pneumonia'nın* yanık enfeksiyonundaki prevalansını araştırmak ve aşağıdaki adımlara göre fenotipik ve genotipik yöntemlerle antimikrobiyal direnç paternlerini araştırmaktır:

1. Yanık enfeksiyonlarından *K. pneumonia'nın* izolasyonları ve tanımlanması.
2. Disk difüzyon yöntemi ile *K. pneumonia* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık testi.
3. (*tem, she, ctx-m ampc, oxa, ve*b, *aacc1* ve *aacc2*) gibi antibiyotik direnç genlerinin PCR tekniği ile moleküler tespiti.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Yanıklar

Yanıklardan ölüm yüzdesi farklı faktörlere bağlıdır. En önemli faktör yanma derecesidir (Jeschke *et al.* 2020). Yanıklara haşlanma (sıcak sıvılar), ısı, radyasyon, açık alev, elektrik ve sıcak su şişeleri neden olur (Hansen *et al.* 2019, Jeschke *et al.* 2020). Çünkü yaşayan ve ölü grupların çoğu ikincil yanıklardır. Yanık şiddeti ile ölüm oranı arasında bir ilişki bulundu (Christofides *et al.* 2020). Yanıklardan sonra çoğu hasta bakteriyel enfeksiyonlardan ciddi sonuçlar alır. Bu, morbidite ve mortalite ile mücadele için en yaygın zorluktur. Yanıkların neden olduğu cilt bariyerinin yırtılması, lokal ve sistemik bağışıklık tepkilerine yol açar ve mikrobiyal enfeksiyonların komplikasyonlarında rol oynar (Jeschke *et al.* 2020, Savetamal 2021). Genel olarak insan derisi, Micrococcus, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, Propionibacterium acnes, *Neisseria* ve *Peptococcus* gibi normal flora ve patojen bakterilerin bir karışımına sahiptir. Böylece, yara sürüntü kültürü, enfeksiyon ve gastrointestinal ve üst solunum yollarının florasında ve/veya hastane ortamında bulunan gram-negatif bakteriler, gram-pozitif bakteriler ve mayalar gibi kolonize mikropların farklılaşmasına neden olur (Zhou *et al.* 2020, Bay *et al.* 2020). Mevcut araştırma, bağırsak ailesinde cilt hasarına neden olan en önemli cinslerden biri olan *K. pneumoniae'y*e odaklandı.

Yanık yaralanmaları hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde halk sağlığı açısından önemlidir. İşlevsel sakatlık, ciddi yara izi ve etkilenen vücut parçasının kontraktürleri gibi çeşitli komplikasyonlarla ilişkilidir (Jeschke *et al.* 2020). Yanık yaralanmaları cildi büyük ölçüde etkiler (Jeschke *et al.* 2020). Yanıklar tüm dünyada önemli bir hastalık ve ölüm nedenidir (Jeschke *et al.* 2020). Yanık yaralanmaları zengin ülkelerde de görülmesine rağmen yoksul ülkelerdeki prevalansı oldukça yüksektir (Smolle 2017, Greenhalgh 2019).

2.1.1 Yanık türleri

Yanıkların sınıflandırılması derinliğine göre yapılabilir (1., 2. ve 3. derece yanıklar). Yaygın olarak inhalasyon yaralanması olarak adlandırılan diğer bir yanık türü, duman ve sıcak dumanların solunmasından kaynaklanır (Newell *et al.* 2020). Üç çeşit yanık vardır:

1. Birinci derece (yüzeysel) yanıklarda, sadece cildin dış tabakası etkilenir; renk değişikliği (siyahlarda ciltte koyulaşma, beyazlarda kızarıklık), şişlik, ağrı ve kuruluk olur. Bu yanıklar üç ila altı gün içinde iyileşir.
2. İkinci derece (kısmi kalınlıkta) yanıklarda, hem dış tabaka hem de alttaki tabaka tahrip olur; kabarma ve şişlik ve ağrı var. Bu yanıkların çoğu iki ila üç hafta içinde iyileşirken, diğerleri üç haftayı geçebilir.
3. Üçüncü derece (tam kalınlıkta) yanıklarda, cildin tüm kalınlığı yok edilir. Tendonlarda ve kemiklerde, ana organlarda ve kan damarlarında büyük hasar olabilir.
4. Üçüncü derece yanıklarda sinir hasarı nedeniyle ağrı hissedilmeyebilir. Yanmış alan kömürleşmiş, koyu kahverengi, mumsu, kabarık ve kösele gibi olabilir (Momtaz *et al.* 2020).

2.1.2 Yanık epidemiyolojisi

Yanıklar, tahmini %90'ı Düşük ve Orta Gelirli Ülkelerde (LMIC'ler) meydana gelen trafik kazaları, düşmeler ve kasıtlı şiddetten sonra en yaygın dördüncü travma olarak nedenidir (Ryder 2020). Afrika'da yılda 100.000 nüfus başına 6,1 yanığa bağlı ölüm varken, Yüksek Gelirli Ülkelerde (HIC'ler), 100.000 nüfus başına 1,0 yanığa bağlı ölüm vardır (Allorto *et al.* 2021). Her yıl, Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 2,5 milyon kişinin termal hasar yaşadığı ve tıbbi tedaviye ihtiyacı olduğu tahmin edilmektedir (Polychronopoulou *et al.* 2021).

2004 küresel yangına bağlı yaralanma insidansının 100.000 nüfus başına 1,1 olduğu tahmin ediliyordu ve Güneydoğu Asya ve Amerika sırasıyla en yüksek ve en düşük oranları kaydetti. Hindistan'da her yıl 15-40 yaş arası yaş gruplarında tahmini 6-7 milyon kişi yanık yaralanması yaşıyor (Gupta *et al.* 2010). Genellikle tıbbi müdahale gerektiren yanık yaralanmaları Çin ve Batı Pasifik'te Amerika'dan yaklaşık 20 kat daha fazladır. İran'da 15 yaş altı ölüm nedenleri arasında trafik kazalarının yanı sıra yanıklar ikinci sırada yer alıyor. İran'daki yaralanmalara ilişkin bir değerlendirme, tüm yaş gruplarında yaralanmaların %40'ında meydana gelen ev kazalarının ortak nedeni olarak yanıkların olduğunu bildirdi (Mohammadi *et al.* 2005). İran'ın farklı illerinde kasıtlı yanıkların yılda 100.000'de 2,9 ila 21 arasında değiştiği bildirilmektedir Pakistan'da yanıklar, erken ölümlerin 11. önde gelen nedeni ve ikinci önde gelen sakatlık nedenidir (Farooq *et al.* 2011). Dünya Sağlık Örgütü'nün Küresel Hastalık Yükü (GBD) tahminlerine göre 2004 yılında yaklaşık 310,000 kişi (bunların %30'u 20 yaşın altında) yanık yaralanmaları nedeniyle öldü ve 2013 yılında GBD 2013'e göre 237,500 kişi öldü. Yangına bağlı ölüm/yaralanmalar kaybedilen yaşam yılları açısından 1990 yılında 25., 2013 yılında ise 34. sırada yer almıştır. Hindistan'da, Ulusal Suç Kayıt Bureau tarafından 2013 yılında yayınlanan verilere göre, elektrik çarpması ve yangın kazaları, kazalara bağlı toplam ölümlerin sırasıyla %2,6 ve %5,5'inden sorumluydu (Siddaya *et al.* 2020).

Yanık zayiatı, küresel ölçekte önemli bir halk sağlığı sorunudur ve yılda benzeri görülmemiş 265.000 ölümden sorumludur. Dünya çapında yaşanan engelli yaşamın yaklaşık yarısı, 0 ila 14 yaşları arasındaki yangınla ilgili yaralanmaların bir sonucu olarak gerçekleşti (Alemayehu *et al.* 2020).

2.1.3 Yanık yara enfeksiyonuna neden olan organizmalar

Temas ettikleri materyallerin çeşitliliği nedeniyle birçok farklı bakteri türü ile enfekte olurlar. Çok miktarda protein eksüdasının salınması, cilt bariyeri hasar gördüğünde bakteri üremesini kolaylaştırır (Op't Veld *et al.* 2020, Ahuja *et al.* 2009). Normal cilt florası stafilokoklar, propionibakteriler, korinebakteriler ve mayalardan oluşur (Dekaboruah *et al.* 2020). Bu, kasık ve koltuk altı gibi nemli alanlarda santimetre kare

başına birkaç yüz ile daha fazla sayı arasında değişebilir (Dekaboruah *et al.* 2020). Bu normal flora, patojenik mikropların rekabetçi inhibitörleri olarak hareket etse de, derinin bacak ülserleri, yanıklar, cerrahi, travmatik yaralar yoluyla yırtılması, çürük cilt yüzeyinin patojenik bakteriler tarafından daha geniş kolonizasyonuna izin verir (Dekaboruah *et al.* 2020).

Bir ülser kolonize olduğunda, iltihaplanma genellikle oluşmaz, ancak çevreleyen dokunun enfeksiyonu, kolonize eden organizmaların yanal yayılmasından kaynaklanabilir (Kirketerp-Møller *et al.* 2020). Genellikle izole edilen patojenler arasında Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella spp., Staphylococus aureus ve koliform basiller bulunur. Candida albicans ve Aspergillus fumigatus gibi mantarlar da enfeksiyonlara neden olur (Rodriguez *et al.* 2020).

Bu nedenle, klinik olarak kolonizasyonun enfeksiyondan net bir şekilde ayırt edilmesi gereklidir, çünkü birincisi antibiyotik gerektirmez, ancak ikincisi gerektirir (Kirketerp-Møller *et al.* 2020). Çalışmalar, yaygın gram pozitif bakteri izolatları olarak koagülaz negatif stafilokok, Staphylococcus aureus ve Enterococcus spp ve Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus spp. ve Acinetobacter spp. gibi yaygın gram negatif bakteri izolatlar izlenmiştir, Çizelge 2.1'de gösterildiği gibi (Cabral *et al.* 2019). Ancak, çeşitli konumlar arasında zamanla zamanla değişiklikler görülebilir (Singh *et al.* 2017).

Çizelge 2.1 Yanık yaralarını kolonize eden ve enfekte eden en yaygın mikroorganizmaları listesi (Al-Aali 2016)

İzole Mikroorganizmalar	**Sayı**	**Yüzde**
Gram- pozitif koklar		
Staphylococcus epidermidis	50	22.2
Staphylococcus aureus	44	20
Enterococcus facium	10	4.5
Gram- negatif çubuk		
Escherichia coli	89	40
Morganellamorganii	25	11.3
Pseudomonas aeruginosa	87	39.5
Klebsiellapneumoniae	62	28.1
Acinetobacterbaumannii	43	19.5
Proteus mirabilis	35	16
Maya ve Mantar izolatları		
Candida glabrata	10	4.5
Aspergillus türler	6	2.7

2.2 *Klebsiella Pneumoniae*

2.2.1 Tarih

K. pneumoniae, Enterobacteriaceae familyasının bir üyesidir, *Klebsiella* cinsine aittir. 100 yıldan fazla bir süre önce, popülasyondaki pnömoninin başlıca nedeni olarak kaydedildi. Alman-İsviçreli bir patolog olan Edwin Klebs, 1885 yılında pnömoniden muzdarip bir hastanın solunum yollarındaki bakterileri tanımladıktan sonra türe Klebsiella adını verdi (Sathiya 2018, Mohammed *et al.* 2021).

1982'de Carl Friedlander doğum pnömonisinden muzdarip hastanın fibröz eksüdalarında bakterileri tespit eden Alman patologdu ve özellikle kronik hastalıklar

veya alkolikler gibi bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde pnömoninin başlıca etiyolojik nedeninin K. pnömonisi olduğunu öne sürdü. Bakteri ilk önce Friedlander basili olarak kapsüllenmiş ve daha sonra 1886'da Klebsiella olarak yeniden adlandırılmıştır (Oraibi and Al-Azawi 2021).

K. pneumoniae en yaygın patojenlerdir (Wyres *et al.* 2020). Son zamanlarda, *K. Pneumoniae*, pnömoni, bakteriyemi, idrar ve yara enfeksiyonları dahil olmak üzere dünya çapında hastane enfeksiyonlarının önemli bir nedenidir (Wyres *et al.* 2020).

2.2.2 Açıklama ve taksonomi

K. pneumoniae, Gram negatif, spor oluşturmayan, laktozu fermente eden, fakültatif anaerobik, çubuk şekilli ve hareketsiz bir bakteri cinsidir. *K. pneumoniae*, büyük bir polisakkarit kapsülü nedeniyle yüksek derecede plastisiteye sahiptir (Garcia-Fulgueiras *et al.* 2020, Sulaiman and Salih 2020).

Klebsiella cinsi hareketsizdir (Klebsiella mobilis hariç), sporsuzdur, bazı suşlar bakteriyosin (klebcin) üretir (Chiu *et al.* 2016). Laktozu fermente eden, oksidaz negatif, üreaz pozitifdir (K. terrigena hariç) (Dubey *et al.* 2013). Katalaz pozitiftir. TSI agarda hidrojen sülfür oluşturmaz veya jelatini sıvılaştırmaz ve (G+C) oranı %53 ile %59 arasındadır (Collee *et al.* 1996). Büyüme için sıcaklık aralığı 12-43 Cº ve ideal sıcaklık 37 Cº'dir. Tüm hücre yüzeyini kaplayan polisakkarit yapıda kapsül bulunur ve bu kapsül önemli miktarda glukoton ve piruvik asit içerir (Sulaiman and Salih 2020). Koloniler Hemolitik Olmayan kanlı agar plakaları üzerinde parlak ve mukoid görünümündedir. Klebsiella tek başına, çiftler halinde veya kısa zincirler halinde düzenlenebilen 0,3-1 m çapında ve 0,6-6 m uzunluğunda çubuk şeklinde bir organizmadır (Wang *et al.* 2012). Klebsiella, büyük, mukoid koloniler (mukoidlik seviyesi kültür ortamının karbonhidrat içeriğine bağlıdır ve suşlar arasında farklılık gösterir) oluşturan anaerobik fakültatif bir bakteridir, MacConkey agarda laktoz ve asit üretimi fermantasyonunu gösteren pembe pigmentlidir (Nima and Al-Ramahi 2020).

K. pneumonia su, toprak ve bitkilerde bulunan fırsatçı bir patojendir. Bağırsak ve ağız mukozası ve memeli derisi gibi yüzeylerde normal florada bulunabilir. Genellikle, kronik alkollü hastalık geçmişi olan hastalarda kültürde pulmoner patojen olarak tanımlanır (Sulaiman and Salih 2020).

Pnömoni, rinoskleroma, sinüzit, otit gibi solunum yolu enfeksiyonlarının birincil nedeni olmasının yanı sıra enterit gibi gıda kaynaklı enfeksiyonlara da neden olur. *K. pneumoniae* ayrıca idrar yolu, genital sistem ve göz enfeksiyonları ile de ilişkilidir (Sulaiman and Salih 2020). Ayrıca *K. pneumoniae* ventilatör ilişkili pnömoni, kateter ilişkili enfeksiyon, sepsis ve bakteriyel menenjitin ana nedenidir (Jean *et al.* 2020). *K. pneumoniae* ise hastane kaynaklı ve toplum kökenli enfeksiyonların en sık etkenidir (*Sulaiman and Salih 2020).*

Taksonomik olarak, K. Pneumonia, Enterobacteriales takıma aittir. Sınıfı: Gamma proteobacteria, şubesi: Proteobacteria ve familyası: Enterobacteriaceaedır (Broberg et al. 2014). Klebsiella cinsi, biyokimyasal reaksiyonlara ve tıbbi önemine bağlı olarak üç ana türe ayrılmıştır: K. pneumoniae, K. ozaenae ve K. rhinoscleromatis (Sathyavathy and Madhusudhan 2020). K. Pneumoniae, pnömoniye neden olur, K. ozaenae rinoronekroza neden olur ve K. rinoscleromatis hem nazal hem de kıkırdağını etkiler, burun sertleşmesine neden olur (Jawetz et al. 2010).

DNA'daki benzerlik temelinde modern sınıflandırma sistemleri benimsenmiştir. *Klebsiella* cinsini on iki tür olarak sınıflandırmıştır: *K. granulomatis, K. mobilis, K. singaporensis, K. oxytoca, K. trevisanii, K. terrigena, K. ozaenae, K. ornithinolytica, K. planticola, K. variicola, K. rinoskleromatis ve K. pnömoni.*

2.2.3 Epidemiyoloji

Klebsiella fırsatçıdır ve enterik bir mikroptur. Enterik bakteriler genellikle hastalığa neden olmazlar ve hatta bağırsakta normal fonksiyon ve beslenmeye katkıda bulunabilirler. Bakteriler ancak normal bağırsaklarının veya daha az yaygın diğer

normal flora bölgelerinin dışındaki dokulara ulaştığında patojenik hale gelir (Lin *et al.* 2020, Zheng *et al.* 2021). *K. pneumoniae*, ortalama insanların solunum yollarının ve dışkılarının yaklaşık %5'inde bulunur ve bakteriyel pnömonilerin sınırlı bir oranından (yaklaşık %1) sorumludur (Rao *et al.* 2020).

K. pneumonia, E. coli'den sonra Enterobacteriaceae Familyasının tıbbi açıdan en önemli türüdür (Mirzaei *et al.* 2021). *K. pneumoniae,* septisemi, yara ve kan enfeksiyonunun sık nedeni olan, hastane kökenli önemli bir patojendir (Sulaiman and Salih 2020). Bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde idrar yolu enfeksiyonu, karın içi enfeksiyonlar ve pnömoni, aynı zamanda toplum kökenli pnömoni gibi toplum kökenli bulaşıcı hastalıklar açısından da önemli bir patojendir (Govender *et al.* 2021).

Dünyanın çeşitli bölgelerinde, genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL'ler) ve metallokarbapenemaz içeren *K. pneumoniae* suşları tanımlanmıştır. Bu suşlar, tedavi seçeneklerini kısıtlayarak geniş bir antibiyotik yelpazesine tolerans kazandırır (Sawa *et al.* 2020). Bu dirençli patojenler klinik olarak önemli olarak kabul edilirler çünkü sıklıkla hastane enfeksiyonlarına neden olurlar ve bu da ilaç başarısızlığı, hastanede kalış süresinin uzaması, daha yüksek sağlık harcamaları ve mortalitede potansiyel bir artış ile ilişkilidir (Riwu *et al.* 2020).

2.2.4 Bulaş

K. pneumoniae enfeksiyonları sağlık çalışanları tarafından hastaya kolayca transfer edilebilir (Heidary *et al.* 2018). *K. pneumoniae* pnömoniye neden olabilir ve kana geçerek bakteriyemiye neden olabilir (Khairy *et al.* 2020). *K. pneumoniae* enfeksiyonları, enfekte olmuş nesnelerle ve insan elleriyle temas yoluyla edinilen hastanelerde baskındır, ve enfeksiyonlar ventilatör ve kateterler tarafından yayılabilir (Mathur *et al.* 2021, Costa *et al.* 2020).

Hastaların mide-bağırsak sisteminde *K. pneumoniae* bulaşmış olabilir (Al-Zubaidi and Al-Taai 2020). *K. pneumoniae* için olası rezervler hayvan veya gıda kaynakları olarak

belirlenmiştir. Çoklu ilaca dirençli *K. pneumoniae'nin* hızla yayılma yeteneği, bakterileri önemli bir patojen yapar (Profeta *et al.* 2021).

2.2.5 Klebsiella pnömonisinin patojenitesi

K. pneumoniae , pnömoni, septisemi, menenjit, yara enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları ve yoğun bakım ünitelerindeki enfeksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu fırsatçı bir patojendir (Sun *et al.* 2021). *K. pneumoniae*, erişkinlerde ve çocuklarda nozokomiyal enfeksiyonların yaygın nedenidir, o yüzdan ölüm oranı çok yüksektir (Cheng *et al.* 2020, Albasha *et al.* 2020).

K. pneumoniae polisakkarit kapsül, hipermukoviskozite fenotipi, hücre duvarlarındaki lipopolisakkarit kısmı, tamamlayıcı öldürme direnci, fimbria tip 1 ve 3, adezinler, demir edinme sistemleri, serum direnci, geniş antibiyotik kullanımı ve biyofilm üretimi dahil olmak üzere birçok virülans faktörü tanımlamıştır (Priyanka *et al.* 2020). Tem ve shv genleri gibi virülans genlerinine sahip *K. pneumoniae* suşlarının beta-laktamaz antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği ve yüksek patojeniteye sahip olduğu bilinmektedir (Kudo *et al.* 2020). Gram negatif bakterilerin antibiyotik toleransı, yüksek ölüm riski, hastanede kalış süresi ve hastane maliyetleri ile ilişkilendirilmiştir (Touat *et al.* 2021). *Klebsiella* organizmalarının insanlarda deri, farenks ve gastrointestinal sistemde kolonize olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, steril yaraları ve idrarı kolonize edebilirler ve kolon, bağırsak ve safra yollarının çeşitli bölgelerinde doğal floranın bir parçası olarak bulunabilirler (Chun-mei *et al.* 2021).

Kateterli hastalardaki hastalıkların ana nedeni, tıbbi ekipmanlarda (örn. kateterler) bulunan Klebsiella pneumonia biyofilmidir (Devanga Ragupathi *et al.* 2020). Bakteriyemi ve apselerin kaynağı *K. pneumoniadır*. Bu hastalıklar hastane kaynaklı, tıbbi veya toplum temelli olabilir (Brisse *et al.* 2013). *K. pneumoniae* enfeksiyonu olan hastalarda yaygın tanı diyabetes mellitustur (Jin *et al.* 2020).

1980'lerde *K. pneumonia*, hematolojik malignitelerin kemik iliği transplantasyonu olan hastalarda nötropeninin ana nedeniydi; özellikle, yoğun ve sürekli kemoterapi, genellikle bakteriyemi dahil invaziv enfeksiyonlara yol açan bakteriyel translokasyonu teşvik eden mukozal yaralanma ile ilişkilidir (Arshad *et al.* 2021, Herridge *et al.* 2020). Piyojenik apsenin birincil nedeni, özellikle Asyalılarda ve dünya çapında septik endoftalmiler ve diyabetli hastalarda, önemli komplikasyonlara sahip olan *K.pneumoniae* idi (Jin *et al.* 2020).

Hiper viskoz K.pnömonisi (hvKP), Klebsiella'nın benzersiz bir suşudur, hastane enfeksiyonuna neden olma kapasitesine ve bağışıklığı yeterli ve genç, sağlıklı bireylerde ciddi enfeksiyonlara neden olabilecek çarpıcı kapasiteye sahiptir (Li *et al.* 2020)

Nozokomiyal *K.pneumoniae* enfeksiyonların, çeşitli nedenlerle tedavisi zorlaşmaktadır. Birincisi, in vivo olarak geliştirilen *K.pneumoniae* biyofilmlerinin bir patojenin konak bağışıklık sistemine saldırmasına ve onu antibiyotiklere karşı korumasına izin vermesidir; ikincisi, *K. pneumoniae* nozokomiyal izolatlarının genellikle çoklu ilaç direncine sahip olmasıdır (Ma *et al.* 2020).

2.2.6 Virülans faktörleri

Klebsiella virülans faktörleri, konakçı savunma mekanizmalarının bölgeden bölgeye farklılık göstermesinden dolayı enfeksiyon bölgelerine bağlı olarak farklılık gösterir (Choby *et al.* 2020). Örneğin, idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan K. pneumonia suşlarında bulunan virülans faktörlerinin modelinin, pnömoni hastalarının pulmoner kaynaklarından çıkarılan P suşlarında görülenden farklı olacağını varsaymak mantıklıdır. K. pneumonia suşları, konakçıda enfeksiyonu ve hayatta kalmayı kolaylaştıran çeşitli virülans faktörlerine sahiptir. K. pneumonia virülans faktörlerinin yedi ana bakteriyel faktörden oluştuğu belgelenmiştir: kapsül (fagositozun inhibisyonu için), lipopolisakkarit (konak serum kompleman faktörlerinden kaçınmak için), fimbria (adezyon için) (Pinsky *et al.* 2009), sideroforlar (demir alımı için), bakteriyosin (Mohamed 2020) serum direnci (Ghose and Euler 2020) ve geniş spektrumlu β-

laktamazlar (ESBL'ler) (geniş spektrumlu sefalosporinlerden korunmak için), (Lee *et al.* 2020).

2.2.7 *K. Pneumoniae'nin* alt türleri

Klebsiella spp. genetik olarak heterojendir ve türler ve alt türler içindeki suşlar; biyokimyasal testler, antijenik spesifikliklerin analizi, bakteriyofaj duyarlılığı tiplendirmesi, bakteriyosin duyarlılığı veya üretim tiplemesi ve moleküler tiplendirme yöntemleri dahil olmak üzere bir dizi yöntemle ayırt edilebilir (Anbazhagan *et al.* 2010).

- **Fenotipik tipleme**

Fenotipik tiplendirme dört tip içerir: biyotipleme, bakteriyosin tiplendirme, faj tipleme ve fenotip-HMV (Ghose and Euler 2020). Kapsülün yapışkan polisakkarit ağı ile bağlanması, bu özelliğe sahip K1 ve K2 serotiplemesi nedeniyle K. pneumoniae'nin virülansı ile ilişkili olan bu viskozitenin yüksek viskoziteli (hiper mukoviskostiy fenotipi) fenotipik paternini oldukça patojenik hale getirmiştir (Namikawa *et al.* 2019).

- **Moleküler tipleme**

İki tür moleküler tipleme tekniği vardır: protein bazlı ve nükleik asit bazlı yaklaşımlar, ardından 1933'te Rebecca Lancefield tarafından keşfedilen serotipleme (Hall *et al.* 2009). Suşları genomik DNA dizileri ve organizasyonlarına göre ayırt etmek için moleküler tipleme teknikleri geliştirildi (Montso *et al.* 2019). Son yıllarda *Klebsiella* suşlarının neden olduğu salgınları incelemek ve çeşitli zaman dilimlerinden ve bölgesel kaynaklardan suşları eşitlemek için çok sayıda moleküler tiplendirme tekniği kullanılmıştır (Chung The *et al.* 2015).

K. pneumonia serotipleri olan K1 ve K2'yi tanımlamak için en sık kullanılan yöntemler; karşı akım immünoelektroforez (CIE)) ve kapsüler şişmedir. Spesifik laboratuvarlarda üretilen antiserumların maliyeti ve temini, serotiplendirme uygulamasını

kısıtlamaktadır. Sonuç olarak, yeni bir moleküler serileştirme yöntemi oluşturuldu (Akbari and Asadpour 2017). Bu yaklaşım, suş farklılaşması için polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı tahlillerin kullanımıyla 77 K. pneumonia suşunun tamamını ayırt etme yeteneğine sahiptir (Fang *et al.* 2016).

Klebsiella suşlarının temel olarak O-antijeni (Lipopolisakkarit) ve K-antijenlerine (kapsüler polisakkarit). O-serotiplemenin 8 farklı O-antijen türüne göre sınıflandırılması uzun zamandır teknik olarak zor olmuştur, çünkü ısıya dayanıklı K-antijenlerinin 77 tipte sınıflandırılması, O-antijenlerinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Zhang *et al.* 2020). Kapsül tiplemesi, aksine, iyi bir tekrarlanabilirlik gösterir ve çoğu klinik izolatı ayırt edebilir (Chavan *et al.* 2005). Dolayısıyla K-serotipleme şu anda Klebsiellae spp. Klebsiella'nın tiplendirilmesi için en yaygın kullanılan tekniktir. Klebsiella genellikle kolonilerine karakteristik mukoid görünümünü veren iyi gelişmiş polisakarit kapsüllerine sahiptir (Choi *et al.* 2020, Catalán-Nájera *et al.* 2017).

2.3 Antibiyotik Direnci

Toplum kaynaklı enfeksiyonları veya hastane kaynaklı enfeksiyonları tetikleyen bakterilerde antimikrobiyal tolerans önemli ölçüde artmıştır. Özellikle Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae gibi çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalar (Rostkowska *et al.* 2020). Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve monobaktamlar da laktam antibiyotik formlarıdır. İsimleri, yapılarına bir -laktam halkasının dahil edilmesinden kaynaklanır; bu halka antimikrobiyal etki için gereklidir (Sahoo and Banik 2020).

Bakteriyel enfeksiyonlar için en iyi bilinen tedavi beta-laktam antibiyotiklerdir. Proteinleri penisiline bağlayarak eylemini gerçekleştirir ve böylece peptidoglikan sentezini inhibe eder. Bakteri hücre duvarı, PBP'lerin inhibisyonu nedeniyle hasar görür ve kaçınılmaz olarak hücre ölümüne katkıda bulunur (Lewis 2020).

Beta laktamaz gelişiminin, bu antibiyotik gruplarına karşı bakteri direncinin anahtar mekanizması olduğu bilinmektedir (Palacios *et al.* 2020). Hücrelerde biyosentezi engelleme potansiyelleri nedeniyle, bu enzimler beta-laktam antibiyotikleri hidroliz

yoluyla inaktive eder, β-laktam, dirençli bakterilerin gelişmesinden yaklaşık 20 yıl önce bakteriyel savunmanın ana hattı olmaya devam eder (Liakopoulos *et al.* 2016). Son olarak, Gram-negatif bakterilerde β-laktamaz enzimlerinin üretimi, birincil direnç mekanizmasını temsil eder. Bu enzimler, β-laktam halkasının karbonil parçasını kovalent olarak bağlayabilir ve amid bağını hidrolize edebilir (Liu *et al.* 2019, Palacios *et al.* 2020).

Enzimatik hidroliz dahil olmak üzere öncelikle *K. pneumonia'sında* gram negatif olarak görülen antimikrobiyal direnç yolları, mutasyonu hedefler ve azaltılmış absorpsiyon ve aktif akış yoluyla hücre içi birikimi azaltır (Filgona *et al.* 2015). *K. pneumonia'nın* sadece birkaç antimikrobiyal ajana değil, aynı zamanda geniş spektrumlu β-laktamaza (ESBL) karşı da bağışık olduğu düşünülür (Riwu *et al.* 2020).

K. pneumonia birçok antibiyotiğe karşı yüksek direnci ile dikkat çekmektedir ve diğer gram negatif bakterilere yayılabilen çoklu antibiyotik direnç genlerine sahiptir (Ashurst and Dawson 2018).

Genişletilmiş β-laktamazlar (ESBL), ctx-m, tem ve shv enzimleri klinik olarak en önemli 500 Enzimlerdendir (Bush and Bradford 2019). Aminoglikozid antibiyotikler, sefalosporinler ve beta-laktamaz antibiyotikler *K. pneumonia* ile enfeksiyonlarının tedavisi için en iyi karardır. Eğer bu antibiyotiklere karşı birkaç direnç sistemine sahip iseler bakterileri yok etmek için bu tür antibiyotiklerin kullanılmasında zorluklar vardır (Vital 2013).

2.3.1 Çoklu ilaca dirençli klebsiella pnömonisi

Klebsiella pnömonisi, mevcut antibiyotiklerin kullanımıyla öldürülmesi imkansız olan çoK hastane ve toplum enfeksiyonlarını indükler. Geniş antibiyotik spektrumunun geniş kullanımı ayrıca hastanede yatan hastaların *K. pneumoniae* insidansını artırmasına ve çoklu ilaca dirençli *K. pneumonia* suşlarının desteklenmesine olanak sağlamıştır (Li *et al.* 2020).

K. pneumonia'nın bu çoklu ilaç direnci (MDR) soyları ortaya çıktıkça, *K. pneumonia* enfeksiyonlarının yönetimi daha karmaşık hale gelmiştir. Bu soylar, *K. pneumonia* enfeksiyonlarını başarılı bir şekilde yönetmek için mevcut terapötik seçenekleri azaltan çeşitli antimikrobiyal direnç genlerini içerir (Moradigaravand *et al.* 2017*). K. pnömonisi* tıbbi ortamlarda yaygın olarak tespit edilir ve bunun önemli bir kısmı MDR'dir, bu da onu bugünlerde büyük bir sorun haline getirmektedir (Li *et al.* 2020).

K. pneumonia'nın MDR etkili yayılma potansiyeli, bunu önemli bir nozokomiyal patojen yapar (Morris and Cerceo 2020). Antibiyotiklerin yaygın kullanımı, özellikle MDR K. pneumonia'nin büyümesine izin verir. Antibiyotik direnç genlerinin bakteri türleri ve genleri üzerindeki difüzyonunda da *K. pneumonia* antibiyotik direnci sorunu artmıştır (Hou *et al.* 2015).

Ctx-m'nin, örneğin Escherichia coli ve K. pneumonia gibi klinik Enterobacteriaceae arasında geniş çapta dağıldığı gözlemlenmiştir. ctx üreten suşların genellikle MDR olduğunu gösterilmiştir (Yarima *et al.* 2020). Antibiyotik direnci sorunu, yakın zamanda genişletilmiş beta-laktamaz dirençli Klebsiella pnömonisindeki artışla vurgulanmış olup, büyük ölçüde tem, shv ve metallo-beta-laktamaz dahil olmak üzere beta-laktamaz direnç genlerini taşıyan kalıtsal bileşenlerin gelişmesi ve yayılması ile yönlendirilir (Sofiana *et al.* 2020).

Son zamanlarda, çoklu ilaca dirençli *K. pneumoniae*, antibiyotiğe duyarlı enfeksiyonlara göre daha fazla ağır hastalığa, daha uzun hastanede yatışa, yüksek ölüm oranlarına neden olan az sayıda antibiyotik bulunduğundan dikkate değer bir endişe kaynağı olmuştur (Moradigaravand *et al.* 2017).

2.3.2 Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten klebsiella pnömonisi

Birçok bakteri türünün oluşturduğu enzimler, β-laktam ilaçlara karşı korumada Genişlemiş Spektrumlu β-laktamazlar (ESBL) olup, bu enzimleri kodlayan genler ağırlıklı olarak hareketli genetik elementlerdir (Riwu *et al.* 2020) . ESBL ilk olarak 1983 yılında Almanya'da K. pneumonia suşundan izole edildi ve bu, dünya çapında

hastaneye kaldırılan hastalarda sefalosporin direncinde istikrarlı bir artış gösterdi (Sękowska *et al.* 2020, Mobasseri *et al.* 2021). Etki mekanizmasında beta laktam halkası amid bağını hidrolize eder (Palacios *et al.* 2020).

Geniş spektrumlu β-laktamaz üreten izolatlar, Gram-negatif bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonların tedavisinde kullanılan çoğu antibiyotiğe genellikle dirençlidir (Biset *et al.* 2020). ESBL'ler, *Klebsiella* türlerine karşı aktif olduğu bilinen monobaktamlar ve aztreonamların yanı sıra üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolize etme kabiliyetine sahip hızla gelişen enzim grubudur (Newire *et al.* 2013).

Ambler ve Bush-Jacoby-Medeiros iki dereceli beta-laktamazdır. Ambler grupları amino asit homolojilerine göre A, B, C ve D olmak üzere dört nükleer sınıfta sınıflandırılır. Sınıf A, C ve D atomik, serin amino asitli beta-laktamazları içerirken, atom altı sınıf B, metal-beta-laktamazlar (MBL'ler) için aktif bölgelerinde çinko-molekül enzimleriyle kalır. Üç ana grup ve 16 alt grupta, Bush ve Jacoby Medeiros arasındaki fikir birliği Beta-laktamazlardan oluşuyor. Bu mekanizma substratlara ve enzim inhibitörlerine dayanır (Sawa *et al.* 2020).

Birkaç ilaca dirençli *K. pnömonisi* daha çok geniş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) aktivitesi ile ilişkilidir (Riwu *et al.* 2020). ESBL'ler daha yaygın olarak K. pneumonia ile bağlantılıdır ve nüfus - hastane kaynaklı enfeksiyonların büyük bir kısmından sorumludur (Garcia-Vidal *et al.* 2021).

Klebsiella pnömonisi ve Escherichia coli gibi diğer bazı bakteriler de dünyanın en yüksek genişletilmiş beta laktamazlarını içerir (Dawoud *et al.* 2020). *K. pneumonia* bla *tem*, bla *shv* ve bla *ctx-mda* gibi spektrumun yaygın beta-laktamaz genleri dahil olmak üzere çok çeşitli direnç genlerinin taşınması ve dağıtımı için olağanüstü yeteneklere sahiptir (Silva *et al.* 2020).

Genişletilmiş spektrumlu β-laktamaz, örneğin penisilinler, aztreonam ve ayrıca birinci, ikinci ve üçüncü nesil sefalosporinler gibi geniş bir β-laktam yelpazesine karşı

antibiyotik direnci sağlar (Rawat and Nair 2010). ctx-m enzimler, *K.pneumoniae* suşlarında baskın bir ESBL ailesidir, ancak *tem* ve shv enzimler de yaygındır (Ejaz *et al.* 2021).

Bakteriyel hastalığın en iyi bilinen tedavisinde yer alan Beta-laktam antimikrobiyal ajanlar için dünya çapında Gram negatif bakterilerde β-laktam antibiyotik direnci önemli olmaya devam etmektedir. Bakteri soyları sürekli olarak çok sayıda β-laktamlara maruz kalır ve bu bakterilerdeki β-laktam mutasyonları, yeni gelişen β-laktam antibiyotiklere yanıt olarak aktivitelerini arttırır. Bu enzimler, geniş spektrum için β-laktamazlar (ESBL'ler) olarak sınıflandırılır (Laskey 2020).

Gram-negatif bakterilerde en iyi bilinen β-laktam direnç mekanizması, antibiyotiğin β-laktamaz aracılı hidrolizini gerektirir ve bu da nihai inaktivasyonu ile sonuçlanır. En yüksek seviyedeki antibiyotik direnci, sıklıkla, farklı fonksiyonel gruplara ait çoklu β-laktamazları kodlayan genler de dahil olmak üzere, çeşitli direnç genlerini içeren geniş plazmitlerin değişimi yoluyla ortaya çıkar (De Angelis *et al.* 2020).

Azalan porin veya artan akış gibi düşük antibiyotik seviyelerinin bir sonucu olarak potansiyel olarak ölümcül antibiyotik hacmini değiştirmek de temel takviye seviyelerinin azalmasına yol açabilir. B-laktamaların gelişimi ve porin kombinasyonu, birçok gram-negatif patojeninde genel direnç mekanizmasını azaltmıştır (Smith *et al.* 2020).

Klebsiella pnömonisi sülfametoksazoller, ampisilinler ve trimetoprim gibi birçok antibiyotiğe ve ayrıca sefalosporinin sefotaksim, seftriakson ve seftazidim gibi 3. nesil antibiyotiklerine karşı direnç gösterebilir (Mahato *et al.* 2019). Bu direnç seviyelerinden sorumlu olan gen türüne göre ilaç direnç belirleyicilerinin sistemlerini tanımak, bakterilerde çoklu ilaca dirençli dağılımın anlaşılmasında kritik rol oynar (Ranjbar and Farahani 2019).

Enterobacteriaceae klinik izolatları, özellikle *K. pneumonia* suşları arasında ESBL'lerin yayılması dünya çapında bir sorun haline gelmiştir (Sa'id *et al.* 2020). Son yıllarda, *K. pnömonisi*, yüksek morbidite ve mortaliteye sahip birçok enfeksiyonun önemli bir nedeni olarak gelişmiştir ve bu mikroorganizmalarda antibiyotik direnci dünya çapında büyük bir yayılma gösterirken, *K.pneumonia'da* antibiyotik direncinin dünya çapında antimikrobiyal direnç programı sürveyansı çalışmaları bir genişleme oranları kaydetmiştir (Ku *et al.* 2015).

2.4 Beta-Laktamaz Genleri

- ***Tem* ve *Shv* Genleri**

Hem tem hem de shv geniş spektrumlu β-laktamazlar, ilgili genlerindeki bir veya daha fazla aminoasit ikamesinden türetilir. Tem ESBL'ler Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae'de çok yaygındır ve dünya çapında Gram-negatif basillerde laktam antibiyotiklere karşı en yaygın direnç mekanizmalarından biridir (Da Silva *et al.* 2019). *Klebsiella pnömonisinde* yaygın olarak bulunur, aslında *Klebsiella* türlerinin kromozomundan kaynaklanır, daha sonra plazmide dahil edilir ve diğer Enterobacteriaceae'ye yayılır (Navon-Venezia *et al.* 2017).

Tem ve shv-enzim genleri, aminoglikozid direnci de dahil olmak üzere tekrarlayan direnç faktörlerine sahip transfer edilebilir plazmitler üzerinde bulunur ve artan β-laktam direnci insidansı ve proliferasyonu, bu tür plazmitlerin dağılımından kaynaklanmaktadır (Tapia 2018). E. coli ve *K. pneumonia'dan* kaynaklanan çoğu ESBL, tem ve shv tipi β-laktamazları içeren A sınıfına aittir (Pishtiwan and Khadija 2019). ESBL'lerin tem grubu, bu enzimlerin en büyük ve yaygın olarak yayılmış grubunu oluşturur. Evrimsel öncüleri tem-1 ve tem-2 penisilinazlardır (Al-Ouqaili *et al.* 2020). Tem, 1960'ların başında gram-negatif bakterilerde tanımlanan ilk β-laktamaz aracılı plazmitti. Yunanistan'da Temoniera adlı hastanın kan kültürde tespit edildi (Rawat ve Nair 2010), E. coli ve *K. pneumoniae* gibi gram negatif bakterilerde beta-laktam inhibe edici enzimler daha fazla varlık gösterir (Nguyen *et al.* 2020).

Tem, ampisilini hidrolize etmede karbenisilin, oksasilin ve sefalotinden daha etkilidir ve klavulanik asit tarafından bloke edilir. Her biri bir dizi sessiz mutasyonla ayırt edilen bir dizi gen alleli, tem-1a totem-1f tarafından kodlanır (Deshayes *et al.* 2017). *Tem-2*, *tem-1'in* ilk değiştirilmiş versiyonu, orijinal (indirgenmiş) promotörden (blatem-1'de bulunur) 39. pozisyonda (Gln) tek bir amino asit ikamesi içerir ve güçlü bir promotör üretir (Breijyeh *et al.* 2020). Takımın direnişi, penisilinler ve sefalosporinlere dirençli ikinci, üçüncü ve dördüncü nesil sefalosporinler, α-laktamasis inhibitörleri ve monobaktamlardan daha fazladır (Merijn *et al.* 2010).

Esas olarak *K. pneumonia'da* bulunan bla *shv* geni, *tem*'den kısa bir süre sonra keşfedildiğinde "sülfhidril reaktif vektörü" kelimesinden almıştır (Drawz and Bonomo, 2010). Pitton, *shv* kavramını ilk kez 1972'de kullandı ve bu nedenle “Piton” takma adı verildi (Pitton 1972). *K. pneumoniae* ve *E. Coli'de* bulunan yaygın plazmit aracılı β-laktamazdır (Padmini *et al.* 2017).

Bu raporda, shv-1 α-laktamaz K.pneumoniaede en yaygın olanıydı ve plazmid aracılı ampisilin direncinin yüksek olanlarıydı (Bergšpica *et al.* 2020). Tem'in aksine, *shv* β-laktamazların β-laktamaz inhibisyonlarına karşı toleransı yoktur. Beta-laktamaz inhibitörlerine karşı duyarlılık kaybına katkıda bulunabilecek mutasyonlara sahip sadece birkaç enzim bulunmuştur (Drawz and Bonomo 2010).

Shv β-laktamazlar Gram negatif bakterilerde yaygındır. Bu enzimler orijinal olarak *K. pneumoniae* klinik izolatında rapor edilmiştir ve sefalosporin ilacında sülfidril hidrolizi için genel bir tercih sergilerler (Ding *et al.* 2021). Bla *Shv*-1gen başlangıçta nokta mutasyonları ile ilişkiliydi ve ayrıca yeni β-laktamaz varyantlarına katkıda bulunan bla Shv genindeki çeşitli hareket olaylarıyla da ilişkiliydi (Al-Marzooq *et al.* 2013). *K. pneumoniae'nin* topluluklarda hızla yayılması ve antibiyotik direnci veren genleri eksprese eden direnç plazmidleri nedeniyle ampisilin ve amoksisiline doğal olarak direnç gösterebileceği ve kromozom üzerinde veya aktarılabilir bir direnç üzerine kodlanmış tem ve shv beta-laktamaz üretimi nedeniyle nozokomiyal salgınlara yol açabilir (Shaikh *et al.* 2015).

- ***Ctx-m* genler**

1980'lerin sonlarında, ctx-m enzimleri bulundu ve o zamanlar ve ilk olarak tanımlandıkları kasaba (Münih) için seçilen substratları (sefotaksim) için çağrıldı (Sirot *et al.* 1987). ctx-m ailesi, diğer herhangi bir ESBL formunun aksine, çeşitli ve benzer olmayan bir enzim topluluğu içerir. *Ctx-m* varyantları amino asit dizilerinin ilk çalışması ve koordinasyonu, bunları beş kümede tanımladı (*ctx-m-1, ctx-m-2, ctx-m-8, ctx-m-9 vectx-m-25*) (Silva *et al.* 2020).

Filogenetik çalışmalar, *ctx-m* β-laktamazların önceki plazmid aracılı enzimlerin mutasyonları nedeniyle değil, bakteriyel organizmalardaki kromozomal β-laktamaz genleri nedeniyle yakından bağlantılı olduğunu ve dünya çapında bilindiğini göstermiştir (Bevan *et al.* 2017). Beta-laktamaz ctx genleri dahil edilir ve teorik olarak mobil genetik sistemlerdeki konjugasyon ile klinik bakterilere aktarılır. Bla *ctx-m* genler ayrıca hareketli plazmitler üretir (Zhang *et al.* 2019).

K. pneumonia ctx-m enziminin difüzyonu sadece yatay gen transferinin ürünü değil, aynı zamanda ctx-m suşların klonal difüzyonudur (Dziri *et al.* 2020). Ek olarak, K. pneumonia'da İYE'ye neden olan ctx-m ve virülans genlerinin kombinasyonu, patojenin neden olduğu enfeksiyonları daha da yoğunlaştırabilir ve bakımı azaltabilir (Derakhshan *et al.* 2015). Ekleme dizileri (IS), integronlar ve transpoonlar dahil olmak üzere çeşitli beta-laktamaz *ctx-m* genetik elementlerinin bu genlerin etrafındaki benzersiz genetik elementlerle bağlantısı tanımlanmıştır. IS, bu genlerin aşırı ekspresyonuna katılır ve bazıları, transpozisyon birimlerinin de eklendiği bitişik bir integron yapısına sahiptir. Bu üst yapılar genellikle plazmitlerde bulunur (Awosile and Agbaje 2021).

Ayrıca, değerlendirici birimler olarak ve bireysel olarak seçim birimleri olarak hareket edebilirler, yerleştirme dizilerinin (ISEcp1, ISCR, IS26, IS10 ve IS903) seferber olma ve α-laktamaz genlerinin ekspresyonunu teşvik etme yeteneği, dünya çapında ctx-m tipi enzimlerin mevcut yayılmasını açıklayabilir. Ekleme dizisi IS26. Tüm izolatlarda IS26'nın varlığı, muhtemelen bu ekleme dizisinin IncFII, IncN ve IncL/M gibi bilinen plazmitler üzerindeki varlığından kaynaklanmaktadır (Partridge *et al.* 2018).

Ayrıca, bla ctx-m88'in yukarı akışında mobil faktör IS10 gözlendi (Bonnet *et al.* 2000). ctx-m-enzim kodlayan plazmitler de genlerin bakteriler arasında ve genler arasında aktarılmasına izin verecek yükseklikte bulaşıcıdır (Maina 2020). *Ctx-m* enzimlerinin dünya çapında dağılımına bakıldığında, Brezilya ve diğer Latin Amerika ülkelerinde *ctx-m-2* sıktır (Cerdeira *et al.* 2020).

Gram negatif bakteriler arasında bla *ctx-m-2* genlerinin yüksek mobilite oranı ve suşların hastanede şiddetli antimikrobiyal seçici basınca maruz kalması bu genlerin yayılmasının olası nedenleridir (Dropa *et al.* 2015). ctx-m-1,-2 ve -9 gruplarının aksine, *ctx-m-25* dünya çapında nadiren gözlenmiştir (Zhang *et al.* 2009).

- ***Oxa* geni**

Sınıf D laktamazlar, oksalik asidi benzil penisiline hidrolize etme konusundaki üstün kapasiteleri nedeniyle genellikle oksasilinazlar veya oxa-laktamazlar olarak adlandırılır (Krasauskas *et al.* 2015). Bu enzimler 1960'larda ve 1970'lerde tanımlanmış ve penisilin ve oksasilinin hidrolizini göstermiştir (Neuville *et al.* 2017). Poirel ve meslektaşları 2010'yılında oxa-laktamazları dört sınıfa ayırdı (Poirel *et al.* 2012). İlk topluluk, sefalosporinlere veya karbapenemlere karşı belirgin bir etki göstermeyen izole dar spektrumlu D-laktamazdan oluşur. Bu grup, *oxa-1, oxa-2* ve *oxa-101* alt gruplarından oluşmaktadır. İkinci kategori, genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlerin bir alt kümesini (özellikle seftriakson ve sefepim) hidrolize edebilen, genişletilmiş spektrum sınıfı D-laktamazdan oluşur. Grup II'nin üyeleri genellikle dar spektrumlu sınıf D laktamazların nokta mutasyonlarıdır ve bazı genişletilmiş spektrumlu oxa enzimleri yapısal olarak dar spektrumlu sınıf I oxa -laktamazlardan farklıdır. Üçüncü form, karbapenem için daha düşük bir afiniteye sahip olan ve geniş spektrumlu sefalosporinleri büyük ölçüde hidrolize etmeyen, karbapenem-hidrolize D-laktamazdır. Oxa-23 benzeri enzimler, karbapenem hidrolize edici D-laktamazların bir alt sınıfıdır ve Acinetobacter'de karbapenem toleransının önemli bir kaynağıdır (Hammoudi Halat and Moubareck 2020).

Oxa-48 benzeri enzimler olarak bilinen bir başka enzim alt grubu, bu çalışmanın odak noktası olan Enterobacter cinsinde bir niş pazar oluşturur (Poirel *et al.* 2012). Grup IV, çeşitli fermente olmayan Gram-negatif bakterilerin kromozomlarında bulunan ve Acinetobacter baumannii kompleksinin *oxa -51* benzeri alt grubunu içeren doğal olarak oluşan bir D tipi laktamazdır. OXA-laktamaz, laktam antibiyotiklerini karbamoil lizine benzer şekilde hidrolize eder (Bonomo 2017). Oxa enzimi, serinin aktif bölgesini uyarmak ve sabitlemek için bu karbamatize edilmiş lizini kullanılır, böylece su moleküllerinin deasilasyon yolundaki sterik engeli ortadan kaldırarak, laktam reaktiflerinin daha yakın bağlanması ve daha verimli hidroliziyle sonuçlanır (Schneider *et al.* 2009).

- ***Ampc* geni**

Enterobactericeae bakterilerinin çoğu, klinik olarak gerekli sefalosporinazlar olan kromozomları ve plazmidleri üzerinde kodlanmış ampc-laktamazlara sahiptir (Etemadi *et al.* 2020). Bu özellikle *K. pneumoniae* için geçerlidir.

Plazmid aracılı enzimler, kromozomal olarak tanımlanmış ampc-laktamazlara çok benzer şekilde penisilinler, oksiimino sefalosporinler, sefamisinler ve (değişken olarak) aztreonam dahil olmak üzere çok çeşitli α-laktamlara tolerans verir (Ibrahim *et al.* 2019). ESBL'ler, enzimin aktif bölgesini kapatan, üçüncü nesil sefalosporinlere ve monobaktamlara karşı artan afinite ve hidrolitik aktivite ile sonuçlanan bir veya daha fazla amino asit ikamesi olan tipik-laktamaz türevleridir (Meini *et al.* 2019). Yeni sefalosporinlerin yaygın kullanımı ve bunlara karşı ortaya çıkan direnç, daha yeni laktamazların evrimine yardımcı olmuştur (Lee *et al.* 2020). ESBL enzimleri, birincil yapılarına göre dört moleküler sınıfa (A'dan D'ye) veya substrat sürekliliği ve inhibitör yanıtlarına bağlı olarak daha geniş bir fonksiyonel kategoriler aralığında gruplanabilmektedir (Sawa *et al.* 2020).

- **bla *veb* geni**

Per, veb, ges ve ibc-laktamazlar gibi plazmitlerin aracılık ettiği diğer ESBL'ler tanımlanmıştır, ancak nadirdir, başlıca Pseudomonas aeruginosa'da ve az sayıda coğrafi bölgede meydana gelir (Kothari *et al.* 2020, Thenmozhi *et al.* 2014). Bla veb alt grubu, A sınıfı-laktamazların daha kısıtlı alt gruplarından biridir. Bla veb enzimleri, K. pneumoniae, P. aeruginosa, A. baumannii ve diğer Enterobacteriaceae türleri gibi fermente olmayan organizmalarda bol olma eğilimindedir ve bunların çoğalma hızları artmaktadır (Al-Ouqaili *et al.* 2020).

1996'da veb-1 enzimi, Enterobacteriaceae üyelerinde veya fermente etmeyen cinslerde, özellikle Pseudomonas spp'de geniş çapta dağılmış ülkelerde tespit edildiğinden beri, dört başka dizi varyantı ile Vietnam'dan bir *E. coli* izolatında ilk kez tanımlandı (Ghaima *et al.* 2018).

2.5 Çoklu İlaç Direncini Kodlayan Gen *Klebsiella Pneumoniae*

- **Aminoglikozid direnci ile ilişkili genler**

Aminoglikozitler ilk olarak 1940'ta kullanılmış (Ethridge and Smith 2018). Toprak bakterilerinden elde edilen özütler, yaygın olarak aktif olan en eski antibakteriyel tedaviyi ifade eder (Mafiz *et al.* 2018). Çeşitli Gram-negatif aerobik bakterilere (tüm patojenik Enterobacteriaceae dahil), stafilokoklara ve belirli mikobakterilere karşı iyi bir bakterisidal etkiye sahip önemli bir antibiyotik sınıfıdır (Abo-Shama *et al.* 2020). Aminoglikozitler, minik 30S alt biriminin 16S alt birimini ribozomal RNA'ya bağlayarak prokaryotik protein sentezini inhibe eder. Çok yüksek dozaj varsa, nefrotoksisite ve ototoksisite gibi olumsuz etkiler normaldir (Brönstrup and Sasse 2020). Aminoglikozidlere direnç, aşağıdaki yollardan biriyle indüklenebilir: a) aminoglikozid modifiye edici enzimlerin bakteriyel gelişimi, b) membran geçirgenliği, taşınması veya dışarı akması nedeniyle azaltılmış emilim, c) ilaç hedefindeki nokta

mutasyonları veya d) hedefi değiştiren metilasyon enzimleri (Hasan and Al-Harmoosh 2020).

Antibiyotik inaktivasyonu, en yaygın ve en önemli aminoglikozid direnç sürecidir. Aminoglikosit değiştirici enzimler, antibiyotiğin ribozom bağlanma kabiliyetini etkileyen antibiyotik kalıntılarına N-asetiltransferaz (NAT), O-adeniltransferaz, O-nükleotidil transferaz ve Ofosfil-transferaz (APH) ekleyerek işlev görür. Her modifiye edici enzim, substrat özgüllüğünde farklılık gösterebilir ve birkaç aminoglikozide direnç sağlayabilir (Zárate *et al.* 2018).

Bugüne kadar birçok aminoglikozid değiştirici enzim vardır. Aminoglikozid etkisizleştirici enzimlerin direnci, hem konjugatif olmayan hem de konjugatif plazmidler veya başka herhangi bir mobil element üzerinde kodlanabilir. Bu tür bir direnç, artan direnç seviyelerine yol açan nokta mutasyonlarının kanıtı olarak kromozom olarak kodlanabilir (Tawfick *et al.* 2020, Sati *et al.* 2019).

Aminoglikozit değiştirici enzimleri kodlayan plazmid kaynaklı genlerin edinimi ayrıca aminoglikozide dirençli suşlarla sonuçlanır (Brzychczy-Wloch *et al.* 2013). Ek olarak, tüm bu genler, tür sınırları boyunca ilaç direncinin hızla yayılmasına yardımcı olan transpozonlarla ilgilidir. Aminoglikozid tolerans gen türetme çalışmaları, hem gelişen türlerin hem de mutasyona uğrayan doğal hücresel genlerin bunlardan türediğini göstermektedir (Mayhall 2004).

Tobramisin, gentamisin, neomisin ve kanamisin dahil olmak üzere çeşitli antibiyotiklere karşı önemli bir direnç oranı keşfedilmiştir. Şu anda, polimeraz zincir reaksiyonu, hangi genlerin bu antibiyotiklere tolerans verdiğini belirlemek ve bu genlerin başka bakteri çeşitlerinde ve çeşitli başka koşullarda da mevcut olup olmadığını belirlemek için çevresel örnekleri analiz etmek için kullanılmaktadır (Kimberly 2015).

2.6 Teşhis Yöntemleri

Bakteriyel tiplemenin kendi sözlüğü vardır, ancak kullanımı her zaman tutarlı değildir ve bazen kafa karıştırıcı olabilir. "İzole" ve "suş" kelimeleri genellikle eş anlamlı olarak kullanılır, ancak mutlaka doğru bir şekilde kullanılmaz. İzolat, tek bir koloniden kaynaklanan saf bir bakteri topluluğudur (Van Rossum *et al.* 2020). İzolatlar genellikle klinik mikrobiyolojide tek bir hastadan toplanan bir terapötik örneğin birincil kültüründen ekstrakte edilir. Saf kültürde bir tür, tek bir izolatın soyundan gelir, genellikle güçlü bir büyüme ortamında tek bir ilk koloniden gelir. Bir suş, fenotipik ve genotipik özelliklerine göre aynı cins ve türlerin diğer izolatlarından ayırt edilebilen bir dizi izolattır. Tek suşlar genellikle belirli bir mikroorganizmanın bir hastanın farklı vücut bölgelerinden eşzamanlı olarak ekstrakte edilen kültürleridir ve tipleme yoluyla ayırt edilemez (Murray *et al.* 2020).

Benzer bakteri izolatları hızlı ve doğru bir şekilde ayırt etme yeteneği, epidemiyolojik sürveyans sistemleri için kritiktir. Günümüzde laboratuvarlar çok sayıda farklı tipleme tekniği kullanmaktadır. Bu, temel fenotipik özelliklerden DNA dizilimine kadar değişir. (Belkum *et al.* 2007). Daha önce, koloni morfolojisi, renk, koku, antibiyogram bazlı tipleme, biyotipleme, serotipleme ve belirli maddelerin varlığında gelişme kapasitesi gibi fenotipik özelliklerin karşılaştırılmasıyla ayrım gerçekleştirilmiştir. Günümüzde bu teknikler, fenotipler çevresel koşullara oldukça duyarlı olduğundan, laboratuvar ortamları için gereken yüksek düzeyde standardizasyon nedeniyle gereksiz hale gelmektedir. Bunun yerine, daha güvenilir genotipleme teknikleri kurulmuştur (Gajdács 2020). Genotipik analizler, bakteriyel DNA kompozisyonundaki (örn. Plazmitlerin varlığı veya yokluğu), genel yapıdaki (örn., Kısıtlama endonükleaz profilleri) veya bir veya daha fazla genin veya intergenik alanların tam nükleotit sekanslarındaki genomik DNA varyasyonlarının karşılaştırılmasına odaklanır (Tenover *et al.* 2009).

2.7 ESBL İçin Algılama Yöntemleri

ESBL üreten türleri sınıflandırmak için dünya çapında çok sayıda tanımlama tekniği kurulmuştur. ESBL için ulusal eşik değerler çok farklıdır. CLSI kılavuzları seftriakson,

sefotaksim, seftazidim, sefepim ve aztreonama toleransı 16 g/mL'den büyük mic'ler olarak karakterize eder (Wang *et al.* 2011). ESBL üreten organizmalar tarafından indüklenen enfeksiyonların genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler veya aztreonam ile tedavisi, rutin duyarlılık testlerinde etken organizmalar bu antimikrobiyal ajanlara duyarlı görünse de başarısız olabilir (Tamma *et al.* 2020). Ek olarak, bazı ESBL üreticileri, genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonam için normal direnç sınır değerlerinden daha düşük olan (örn. 2 ile 8 g/mL arasında) MİC değerlerine sahiptir. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) sefalosporin sınır değerlerini revize etmiştir ve CLSI şimdi MİK değerlerini kullanarak klinik sonuçların tahminini iyileştirmek için bunları revize etmektedir (Satlin *et al.* 2020). 1980'lerden beri ESBL tanımlaması için çok sayıda fenotipik test yapılmaktadır. Her iki yaklaşım da ESBL özelliklerinin kullanımına izin verir: genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlere ve klavulanat inhibisyonuna karşı azalmış duyarlılık. Bu yöntemleri kullanarak indüklenebilir bir kromozomal AmpC-laktamaz içeren türler tarafından ESBL gelişimini saptamak zordur çünkü AmpC-laktamaz klavulanat inhibisyonuna karşı bağışıktır. Ayrıca klavulanat, bu organizmaların kromozomal AmpC-laktamazlarının bir uyarıcısı olarak hizmet edebilmektedir (Tamma *et al.* 2020).

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1 Materyaller

3.1.1 Aletler ve ekipmanlar

Bu çalışmada kullanılan genel alet ve ekipmanlar Çizelge 3.1'de listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Aletler ve cihazlar

Ekipman Türleri	**Bir imalat firması Ekipman Türleri**
BioMerieux® (France)	Kompakt Otoanalizör Vitek 2.
Olympus (Japan)	Bileşik ışıklı mikroskop
Labtech (Korea)	Otoklav
Hettich (Germany)	Yüksek hızlı soğuk mikro santrifüj
Eppendorf (Germany)	Mikropipet seti (1-1000µL)
Labnet (Taiwan)	Elektroforez cihazı
Cruma (USA)	Hood Odası
Memmert Germany	Su banyosu
Thermolyne (USA)	Sıcak plaka
Concord (Lebanon)	Buzdolabı
Memmert (Germany)	Kuluçka makinesi
Precisa (Switzerland)	Hassas denge
Thermolyne (USA)	Vorteks
Memmert (Germany)	Santrifüj
Ekipman Türleri	Bir imalat firması Ekipman Türleri
BioMerieux® (France)	Kompakt Otoanalizör Vitek 2.

3.1.2 Biyolojik ve kimyasal malzemeler

Çalışma boyunca kullanılan genel reaktifler ve kimyasallar Çizelge 3.2'de listelenmiştir.

Çizelge 3.2 Bu çalışmada kullanılan farklı malzemeler

Malzeme	
Metil kırmızısı	Etidyum bromür
Sodyum klorit (NaCl)	Gliserol ($C_3H_8O_3$)
NaOH	Agaroz
α -Naftol ($C_{10}H_8O$)	Pepton
Gram boyama kiti	Hidrojen peroksit (H_2O_2) 3%
TE- tampon / TBE- tampon	Kovac reaktifi
ViteK ®2 sistem kartları	Metil kırmızısı

3.1.3 Bu çalışma tablosunda kullanılan üreticinin besiyeri

Çalışma boyunca kullanılan üreticinin besiyeri Çizelge 3.3'de listelenmiştir. Bu ortamların tümü, üreticinin protokolü izlenerek 121°C'de ve 15 barda 20 dakika süreyle bir otoklavda sterilize edilecektir.

Çizelge 3.3 Bu çalışmada kullanılan üreticinin besiyeri

Kültür ortamı	**Kullanım**	**şirket**
Beyin-Kalp-İnfüzyon suyu	Bakteriyel aktivasyon	Hi-media/Hindistan
Mueller-Hinton agar	Duyarlılık testi	
Besin suyu	Bakteriyel aktivasyon	
MacConkey agar	Laktoz fermantasyonu	
Besleyici agar	Bakteriyel yetiştirme	
Simmons sitrat	Sitrat üretimi	
Üçlü Şeker Demir Agar (TSI)	Gazla şeker fermantasyonu	
Pepton suyu	Indol üretimi	
Metil kırmızı-Voges Proskauer suyu	Metil kırmızısı-Voges Proskauer testi	
Chrome agar	K.pneumoniae için seçici tanımlama	Oryantasyon / Fransa

3.1.4 Bu çalışmada kullanılan antibiyotik CD'si

Çalışma boyunca kullanılan antibiyotik CD'si Çizelge 3.4'de listelenmiştir.

Çizelge 3.4 Bu test için kullanılan antibiyotik CD'sini Bioanalyse (Türkiye) şirketi tarafından verilmektedir

Sınıf	**Alt sınıf**	**Antibiyotik**	**Sembol**	**Konsantrasyon**
β- Laktamaz	β-Laktamaz inhibitörü kombinasyonları	Amoksisilin+ Klavulanik asit	AMC	30µg
Cephems (sefamlar)	Sefalosporin 3. nesil	Sefotaksim	CTX	30 µg
		Seftriakson	CRO	30 µg
		Seftazidim	CAZ	30 µg
Penemler	Karbapenem	Imipenem	IMP	10 µg
Aminoglikozitler		Gentamisin	CN	10 µg
		Amikasin	AK	30 µg
		Tobramisin	TBO	10 µg
Tetrasiklinler		Tetrasiklin	TE	30 µg
Florokinolonlar		Levofloksasin	LEV	5 µg
		Siprofloksasin	CIP	5 µg
Penisilinler	Aminopenisilin	Amoksisilin	AX	25 µg

3.1.5 Polimeraz zincir reaksiyonunun malzemeleri

- **Moleküler ağırlıklı DNA markörü ve ana karışım**

Çalışmada kullanılan moleküler ağırlıklı DNA markörü ve ana karışım, Çizelge 3.5'te gösterildiği gibi.

Çizelge 3.5 Moleküler ağırlıklı DNA markörü ve ana karışım

Moleküler Ağırlığın DNA Markeri		
DNA Markeri	**Açıklama**	**Şirket**
50 bp ve Yükleme boyası ile merdiven	50-1500 baz çifti (bp). Merdiven, çeşitli boyutlarda (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400,450, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500bp) 13 çift sarmallı DNA parçasından oluşur. Jelde, diğer tüm fragmanlar aynı yoğunluğa sahiptir	Bioneer Corporation (Kore)

- **Primerler**

Çalışmada kullanılan primerleri Çizelge 3.6'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.6 Bu araştırmada kullanılan primerleri gösterir

Gene adı	**(3′-5′) Oligo Dizisi**	**ürünün boyutu (bp)**	**Referans**
OXA	F-ATATCTCACTGTTGCATCTCC R-AAACCCTTCAAACCATCC	618	(Tuwaij *et al.* 2020)
SHV	F- GGCCGCGTAGGCATGATAGA R- CCCGGCGATTTGCTGATTTC	714	(Ensor *et al.* 2009)
TEM	F- CAGCGGTAAGATCCTTGAGA R- ACTCCCCGTCGTGTAGATAA	643	(Ensor *et al.* 2009)
CTX-M	F-AACCGTCACGCTGTTGTTAG R-TTGAGGCGTGGTGAAGTAAG	766	(Ensor *et al.* 2009)
AMPC	F-ATCAAAACTGGCAGCCG R-GAGCCCGTTTTATGCACCCA	550	(Tawaij *et al.* 2014)
aacC1	F-ATGGGCATCATTCGCACATGTAGG R-TTAGGTGCGGTACTTGGGTC	873	(Hujer *et al.* 2006)
aacC2	F-ATGCATACGCGGAAGGCAATAAC R-CTAACCGGAAGGCTCGCAAG	816	

3.2 Çözeltiler ve Reaktifler

3.2.1 McFarland standardı (0,5)

Barry'ye göre planlama aşağıdaki gibidir (Barry and Eini 1976):

100 mL distile su (1,175) g (BaCl2. $2H_2O$) içinde çözülür. 100 mL saf su 2-solüsyon B'ye eklenecek: 1 mL (H_2SO_4). İlk çözelti (A) 0,5 mL ve ikinci çözelti 99,5 mL (B) ile hareket ettirilecektir.

Spektrofotometrede hazırlanmış bir ürünün yoğunluğunu test etmek için kullanılacak: 0,5 Buharlaşmayı önlemek için McFarland standart tüpleri parafilm ile kapatıldı ve 6 aya kadar oda sıcaklığında kalabilir. 625 nm dalga boyundaki absorpsiyon 0,08 ile 0,1 arasında değişebilir.

Bakteriyel süspansiyonun bulanıklığına eşdeğer bir optik yoğunluk elde etmek için: 1.5'a 1 1208 CFU/litre, McFarland standardı (0.5), yoğunluk tespitleri için kullanılan test çubuğuyla aynı çaplara sahip temiz, kuru sınıf bir test çubuğuna uygulanmalıdır.

3.2.2 Üre çözeltisi

Filtre kağıdı, 100 mL damıtılmış su (0,22 mm) içinde 40 gram üre tozunu sterilize etmek için kullanılacak (Collee *et al.*1996).

3.2.3 Kullanıma hazır reaktifler

Hi-media Şirketi - Hindistan, kullanıma hazır tüm reaktifleri (katalaz, oksidaz, kovacs, metil kırmızısı ve voges-proskauer) yayınlanmıştır.

3.3 Kültür Ortamı

3.3.1 Hareketlilik ortamı

Collee vd. (1996) göre bu ortam şu şekilde üretilecek: 100 mL saf suda 1,3 gram çözerek 0,7 gram agar No1 ile beyin çekirdeği infüzyon suyu sterilize edilecek, ardından bunları test tüpünde dikey bir konumda bırakılacak ve bakterilerin hareketlilik kapasitesini değerlendirmek için kullanılacaktır.

3.3.2 Kanlı agar besiyeri

Kanlı agar baz besiyeri, önce üreticinin talimatlarına göre hazırlanarak, ardından otoklavlanacak ve yaklaşık 40-45 °C de tazelenecek, sonra ona (%5) kan uygulanacak ve ardından steril petri plakalarına dökülecektir (Collee *et al.* 1996).

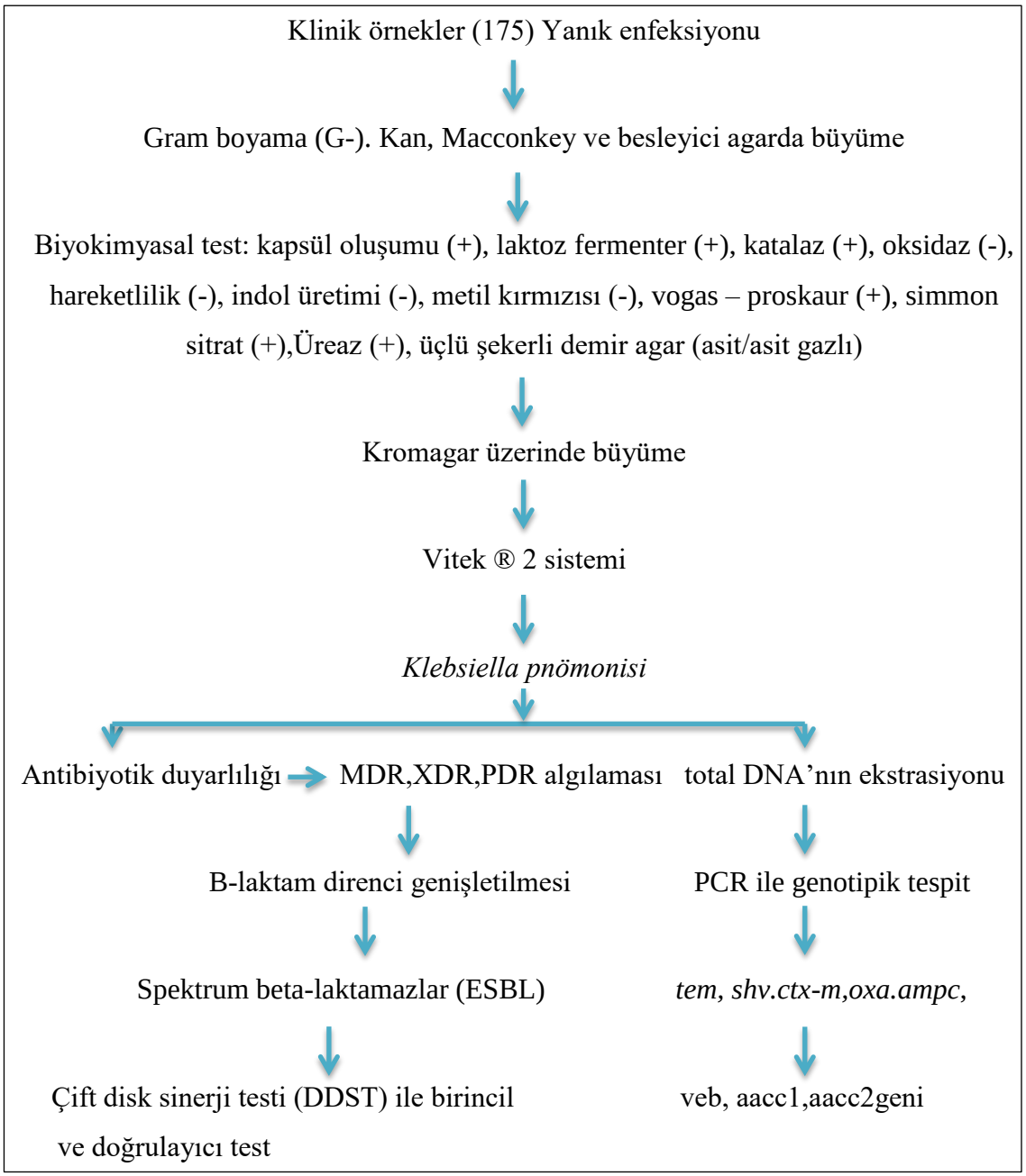
3.3.3 Üre agar besiyeri

Üre agar besiyeri şu şekilde hazırlanmıştır: önce üre agar baz besiyeri 45-50°C'ye soğutularak, ardından pH 6,8-7,9'a adapte edilecek, sonra otoklavlanarak, ardından 95 mL üre bazlı agara 5 mL steril, yüzde 40 üre solüsyonu uygulanacak, sonra her 95 ml üre bazlı agara iyice dağıtılacaktır. Besiyeri Üre agar, bakteriyel izolatların üreaz yeteneğini doğrulamak için kullanılacak (Collee *et al.* 1996).

3.4 Yöntemler

3.4.1 Çalışma tasarımı

Çalışmanın planı Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Mevcut çalışmanın tasarımını göstermektedir

3.4.2 Örneklerin toplanması

Irak'ın 1.5 milyon nüfuslu Necef şehrinde bulunan yıllık 1500 hastanın başvurduğu Orta Fırat Yanık Merkezinde yanık enfeksiyonu olan hastalardan toplam 175 yanıklı hastadan sürüntü örneği toplanmıştır, Şekil 3.2'de gösterildiği gibi.



Şekil 3.2 Yanık enfeksiyonu olan hastalar

- **Swab kültürü**

Swab, enfeksiyon bölgesinden yanık enfeksiyonu olan hastalardan alındı ve aktivasyon için steril normal saline yerleştirildi ve hemen kan ve MacConkey agar plakalarına çizildi, daha sonra 24 saat boyunca 37°C aerobik olarak inkübe edildi (Collee *et al.* 1996).

3.4.3 Klebsiella pneumoniae'nin tanımlanması

- **Gram boyama**

Hem bakteri izolatları için hem de gram boyamada boyanmış, saf ve genç kültürden Smear üretildi. Gram boyama, ışık mikroskobu altında bakteri hücrelerinin şekline ve yapısına karar verildiğini gösterir (Collee *et al.* 1996).

- **MacConkey agar'da büyüme**

Bu besiyeri, Enterobacteriaceae ailesi seçmek için kullanılacak, sonra tüm bakteri izolatları MacConkey agar plakalarına sürme yöntemi ile aşılanarak ardından 37°C'de bir gün inkübe edilecektir. Pembe bakteri kolonileri, fermente laktoz bakterilerinin bir işaretidir (Collee *et al.* 1996).

- **Katalaz testi**

Bu test, Collee vd. (1996) göre aşağıdaki gibi yapılmaktadır: taze (24 saat) ve saf koloniden alınan temiz slaytta geliştirme %3 H_2O_2 ile birleştirilir. Kabarcık oluşumu, bakterinin katalaz enzimleri oluşturma kapasitesinin avantajlı olduğunu ortaya koymaktadır.

- **Oksidaz testi**

Yeni oluşan bir bakteri kolonisi, iki ila üç damla oksidaz reaktifi damlatılmış filtre kağıdı üzerinde steril bir tahta çubukla sürülür . Pozitif bulgular, bakterilerin oksidatik renk (10-15) saniyede (mor) oluşturabilme yeteneğinin bir göstergesi olarak görüldü (Collee *et al.* 1996).

- **Üre üretimi**

Yeni bakteri kolonileri eğimli üre agar üzerinde ekilecek ve ardından gece boyunca 37°C'de inkübe edilecektir. Pozitif sonuç, bakterilerin ürez enzimleri üretme yeteneğini gösteren sarı renkten pembeye orta düzeyde bir renk kaymasıydı (MacFadden 2000).

- **Motilite testi**

Test tüpünün ortasına kadar durdurularak, yeni ve yalnızca bakteri kolonisi aşılanır ve gece 37°C'de inkübe edilir. Bıçak bulanıklığının yayılmasının, Bıçak bulanıklığının yayılmasının bakterilerin motilite potansiyeli üzerinde yararlı bir etkisi olduğu gösterilmiştir (MacFadden 2000).

- **Indol üretim testi**

Bu test, MacFadden (2000)'e göre aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmektedir: Taze bir bakteri izolatı pepton suyuna aşılanarak ardından gece boyunca 37°C'de inkübe edilecek. Test tüpü daha sonra bir veya iki damla Kovacs reaktifi ile doldurulacaktır. Bakterilerin triptofanı indole dönüştürme kabiliyeti için pozitif bir sonuç, pembe bir halkanın oluşturulmasıyla önerilmektedir (MacFadden 2000).

- **Metil kırmızısı testi**

Bu prosedür MacFadden (2000) tarafından gerçekleştirilmiştir:

1. Metil-kırmızı-Voges Proskauer broth'un taze bakteri tecridi aşılmış ve bir gece 37ºC inkübasyon geçirmiş.
2. Test tüpüne birkaç damla reaktif (metil kırmızısı) uygulanır.
3. Kırmızı renk varlığı, bakterilerin glikozla karışık asitleri fermente etme kapasitesinin güçlü sonucuna karşılık gelmektedir.

- **Voges-proskauer testi**

Bu testin prosedürü MacFadden (2000) tarafından gerçekleştirilmiştir:

1. Yeni bir bakteriyel yalıtım, Metil RED-Voges-Proskauer broth'a aşılanmış ve gece boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir.
2. Test tüpüne birkaç damla reaktif (Voges-Proskauer) eklenecek.
3. Kırmızı bir rengin ortaya çıkması, bakterinin glikozun bir ürün olarak 2,3-butandiol oluşturma kabiliyeti için olumlu bir sonuç olduğunu gösterir.

- **Simmons Sitrat testi**

Simmons sitrat slant agarda genç ve taze bir bakteri izolatının aşılanması ve 37°C'de gece boyunca inkübasyon. Bakterilerin glikozdan sitrat üretme yeteneği için pozitif bir sonuca işaret eden mavi rengin görünümü (Collee *et al.* 1996).

- **Üçlü Şekerli Demir (TSI) testi**

Bu testin prosedürü MacFadden (2000) tarafından yapılmıştır: Genç ve taze bir bakteri izolatı TSI slant agar içinde sürme yöntemi ile eklenecek ve 37 santigrat derecede bir gün inkübe edilecektir. Olumlu sonuçlar aşağıdaki gibidir, Çizelge 3.7'de gösterildiği gibi.

Çizelge 3.7 Üçlü şekerli demir (TSI) testi sonuçları

Sonuçlar (slant/butt)	**Sembol**	**Yorumlama**
Sarı / sarı / siyah bir çökelti içinde kabarcıklar	H_2S üretimi ile Asit / Asit	Glikoz, laktoz ve/veya sükroz fermantasyonu; gaz ve H_2S üretimi

- **Krom agar orta testi**

Bu besiyeri, Klebsiella pneumoniae ve Enterobacteriaceae ailesinin diğer üyelerinin belirlenmesi için seçicidir. Aşağıdakiler üreticinin protokolüdür (Oryantasyon şirketi - Fransa): Krom agar besiyeri plakalarında, tüm şüpheli bakteri izolatları sürme yöntemi ile eklenecek ve daha sonra 37°C'de bir gün inkübe edilecektir. Klebsiella pneumoniae için pozitif sonuç olarak kabul edilen metalik yeşil kolonilerin görünümüdür.

- **Vitek2® sitem testi**

Tüm Klebsiella pneumoniae izolatları, üreticinin önlemlerine göre Vitek 2® yöntemi (BioMerieux® - Fransa) kullanılarak tespit edilecektir.

3.4.4 Bakteriyel izolatların depolanması

- **Kısa süreli depolama**

Bir saf ve taze bakteri izolatı kolonisi, MacConkey agar slantları üzerine sürme yöntemi ile eklenerek, 37ºC'de 18-24 saat inkübe edilecek ve buzdolabında 4°C'de iki ila üç ay bırakılacaktır (Collee *et al.* 1996).

- **Uzun süre depolama**

Beş saf ve taze koloni, %15 gliserol içeren besleyici suyu içinde aşılanarak (-10 ile -15ºC)'de 12-18 ay süreyle depolanacaktır (Collee *et al.* 1996).

3.4.5 Antibiyotik duyarlılığı testi

Bu test NCCL'ler (2003)'e uygun olarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

1. Saf ve taze bir kültürden birkaç Klebsiella pneumoniae kolonisi, normal salin içeren steril test tüpüne aktarılarak, ardından McFarland standart tüpü ile karşılaştırılacak. Daha sonra plakalar, steril sürüntü ile sürme yöntemi eklenecektir.
2. Aşılanan tepsi üzerine, steril bir forseps kullanılarak antibiyotik diskler yerleştirilecek.
3. CLSI'ye (2020) bağlı olarak: Disklerin etrafındaki engelleme bölgeleri değerlendirilmiştir.

3.4.6 Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (esbl) üretimi için test birincil test

CLSI (2020) testi şu şekilde yapılmakta

1. Antibiyotik duyarlılık testi, üç tür 3.nesil sefalosporin antibiyotiktir: bunlar, seftazidim 30 µg, sefotaksim 30 µg ve seftriakson 30 µg.
2. İzole edilen bakteriyel inhibisyon bölgesi ise: Seftazidim 30 µg için <22 mm, sefotaksim 30 µg için <27 mm ve forceftriakson 30 µg için <25mm. Bu bulgu, genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (birincil test olarak) gelişimi için pozitif bir sonuç olarak kabul edilmektedir.

3.4.7 Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz için doğrulama testi

Her *K. pnömoni* suşundan iki veya üç taze ve genç koloniler, 24 saat boyunca 37 ° C'de besin suyu içinde aşılandı. Daha sonra kültürlerin besin suyunun bulanıklığı Mcfarland tüpüne göre ayarlandı.

Steril sürüntü kullanılarak Mueller-Hinton agar plakaları bakteriyel süspansiyonlu çizgi yöntemi ile kültürlendi, plakanın ortasına augmentin disk (30 ıg) (Amoksisilin 20 og + Clavulanik asit 10ıg) yerleştirildi. Augmentin diskinin üç kenarının çevresinde, Ceftazidime 30 µg, Ceftazaxime 30 µg ve Ceftraixoin 30 µg diskleri merkezden merkeze 15 mm mesafede yerleştirildi. Daha sonra plaka bir gün boyunca 37 ° C'de

kuluçkaya yatırıldı. İnhibisyon bölgesi, genişletilmiş spektrum bahisleri laktamaz üretimi için olumlu sonuçlar olarak kabul edilen Augmentin diskine doğru arttırılmışsa.

3.4.8 *K.pneumoniae* izolatlarında genlerin moleküler tanımlanması

- **Toplam DNA izolasyonu**

Bu yaklaşım, Lam vd. (2007), Omar ve Anas (2014) tarafından kabul edilmiştir. MacConkey agar plakaları, üç ile beş saf ve taze klebsiella pneumoniae kolonisi ile 300 µL damıtılmış suya yerleştirilecek.

Daha sonra hücreler, 100°C'ye (banyoda) ısıtılarak 20 dakika parçalanacak ve hücreler hemen 30 dakika süreyle buz haline getirilecek ve ardından 8500 rpm'de santrifüjleme, hücrenin diğer bileşenlerinden 10 dakika süreyle çıkarılacak. DNA prototipi sonunda süpernatant olarak kullanılacaktır.

- **Polimeraz zincir reaksiyonu (pcr) protokolleri**

A. PCR karışımı

Mevcut analizde, Monoplex Polimeraz Zincir Reaksiyonu Karışımının toplam hacmi aşağıdaki gibi 20 µL:

1. Ana karışım 10 µL.
2. Primer reverse ve forward (her biri tek başına) 2,5 µL. Primer reverse ve forward (her biri tek başına) 2,5 µL.
3. DNA şablonu 5 µL.

B. Polimeraz zincir reaksiyonunun ısıl döngü koşulları

Polimeraz Zincir Reaksiyonu için döngü yazılımı parametreleri koşulları, Çizelge 3.8'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.8 PCR ısıl döngü koşulları hizmetleri

Gen	Initial Denatürasyon C^o / Zaman	Bisiklet koşulu C^o / Zaman				Son uzatma C^o / Zaman	Referans
		Denatürasyon	Tavlama	Uzantı	Number of Döngüler		
aacC1	95 C^o /5 dk	94 C^o /1 dk	55C^o/ 1 dk	72C^o/2 dk	30	72C^o/5dk	(Hujer *et al.* 2006)
aacC2	95 C^o /5 dk	94 C^o /1 dk	55C^o/ 1 dk	72C^o/2 dk	30	72C^o/5dk	
TEM	95 C^o /5 dk	94 C^o /30 sn	52C^o/45 sn	72C^o/45sn	30	72C^o/7dk	(Ensor *et al.* 2009)
SHV	95 C^o /5 dk	94 C^o /30 sn	55C^o/60 sn	72C^o/45sn	30	72C^o/7dk	
CTX-M	94 C^o /5 dk	94C^o/45 sn	57 C^o /45 sn	72C^o/45sn	30	72C^o/7dk	(Ensor *et al.* 2009)
AMPC	94 C^o /5 dk	94C^o/45 sn	60 C^o /45 sn	72C^o/60sn	35	72C^o/5dk	(Tawaij *et al.* 2014)
OXA	94 C^o /5 dk	94C^o/60sn	55 C^o /60 sn	72C^o/60sn	30	72C^o/10dk	(Tuwaij *et al.* 2020)

C. Agaroz jel hazırlanması ve dna yüklemesi

Bu prosedür Bartlett ve Stirling (1998) göre gerçekleştirilmiştir

1. 1,5 gr agaroz, 10x son konsantrasyonda (90 mL damıtılmış su + 10 mL TBE) 100 mL Tris-borat-EDTA'ya uygulanacak.

2. Hazırlanan Tris-borat-EDTA kaynatılacak, ardından 0,5 mg/mL etidyum bromür ilave edilmeden önce 45°C'ye soğumaya bırakılacak.
3. Agaroz, dengelenmiş bir jel tepsisine dökülerek soğumaya ve sertleşmeye bırakılacak.
4. Beş mikrolitre PCR ürünü agaroz jel kuyularına, bir çukura DNA işaretçisi ile birlikte yüklenecek. Jel girişimi, bir elektroforez bölmesine yerleştirilerek TBE tamponu ilave edilecektir. Ardından 95 dakika boyunca 80 voltluk bir elektrik akımı uygulanacaktır.
5. Son olarak, elektroforez sonucu bir jel dokümantasyon sistemi kullanılarak tespit edilecek; numunenin DNA bandı baz çiftleri hedef ürün boyutuna eşit olduğunda pozitif sonuçlar gösterilmektedir.

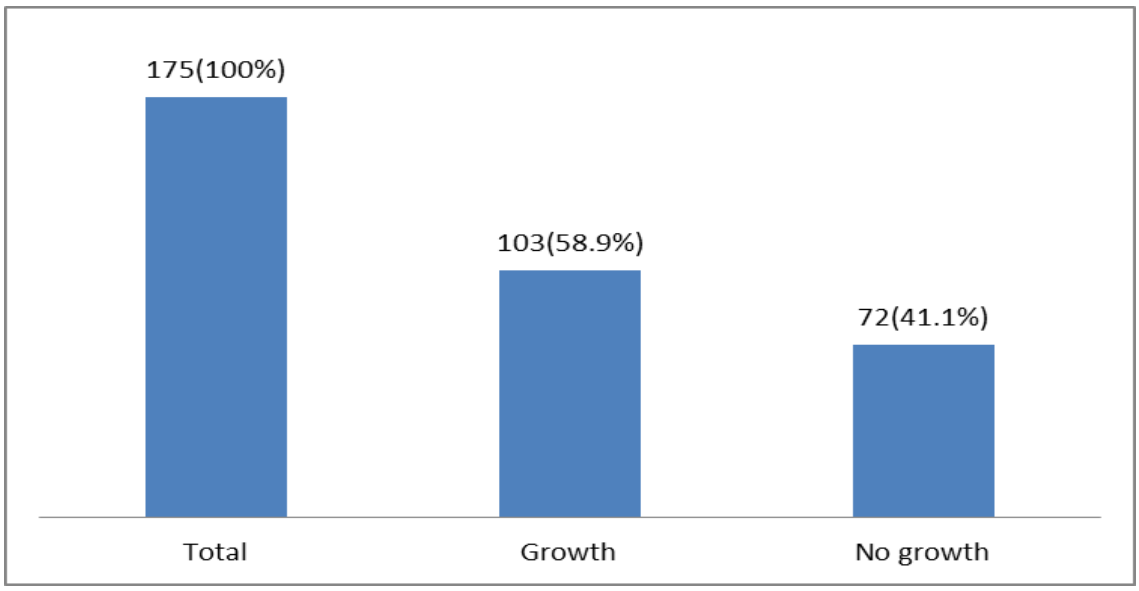
3.5 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için GraphPad Prism sürüm 5 yazılımı kullanılarak araştırma örneklerini karşılaştırmak için yüzdeler kullanılmaktadır.

4. BULGULAR

4.1 Toplam Örnekler

Bu çalışma, 1/5/2020 ile 1/12/2020 tarihleri arasında Irak-Necef Şehri-Irak Al-Necef tıp hastanesinde gerçekleştirilmiştir. Yanık enfeksiyonu olan toplam 175 hastalardan yanık sürüntü çubuğu ile örnek alındı. 175 yanık sürüntü çubuğundan, 103 sürüntü (%58,9) pozitif bakteri üremesine sahip iken, 72 sürüntüde (% 41,1) bakteri üremesi olmamıştır, Şekil 4.1'de gösterildiği gibi.



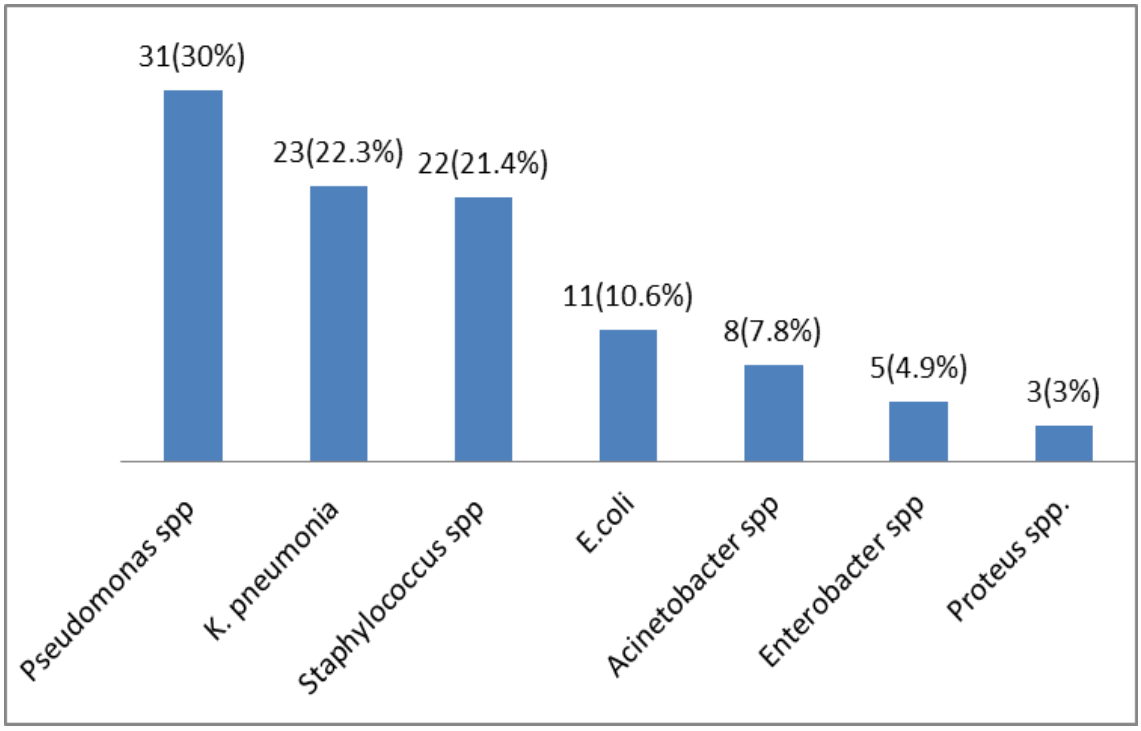
Şekil 4.1 Yanık enfeksiyonlu hastalardan izole edilen toplam yanık sürüntülerinin sayıları ve yüzdeleri

4.2 Toplam Bakteri İzolatları

Yanık enfeksiyonlu 103 hastadan (53 erkek ve 50 kadın) izole edilen bakteri üremesinin sayılarını ve yüzdelerini göstermektedir, Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi. Sonuçlar, toplam 103 bakteri izolatından 31 izolatta (%30) *Pseudomonas spp* (18 erkek ve 13 kadın) ve 23 izolatın (%22,3) *K. pneumonia* (12 erkek ve 11 kadın) olduğunu göstermektedir. Ardından 22 izolat (% 21,4) (11 erkek ve 11 kadın) ile *Staphylococcus*

spp ve 11 izolat (% 10,6) *E.coli* (4 erkek ve 7 kadın) izlemektedir, Şekil 4.2'de gösterildiği gibi.

8 izolat (%7,8) *Acinetobacter spp.*(3 erkek ve 5 kadın) ve 5 izolat (%4,9) *Enterobacter spp* (3 erkek ve 2 kadın) varken, en düşük prevalans izolatı 3 izolat (% 3) (2 erkek ve 1 kadın) ile *Proteus spp* olmaktadır, Çizelge 4.2'de gösterilmektedir. 23 *K. pneumoniae* izolatının tüm morfolojik ve biyokimyasal testleri, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de gösterilmektedir



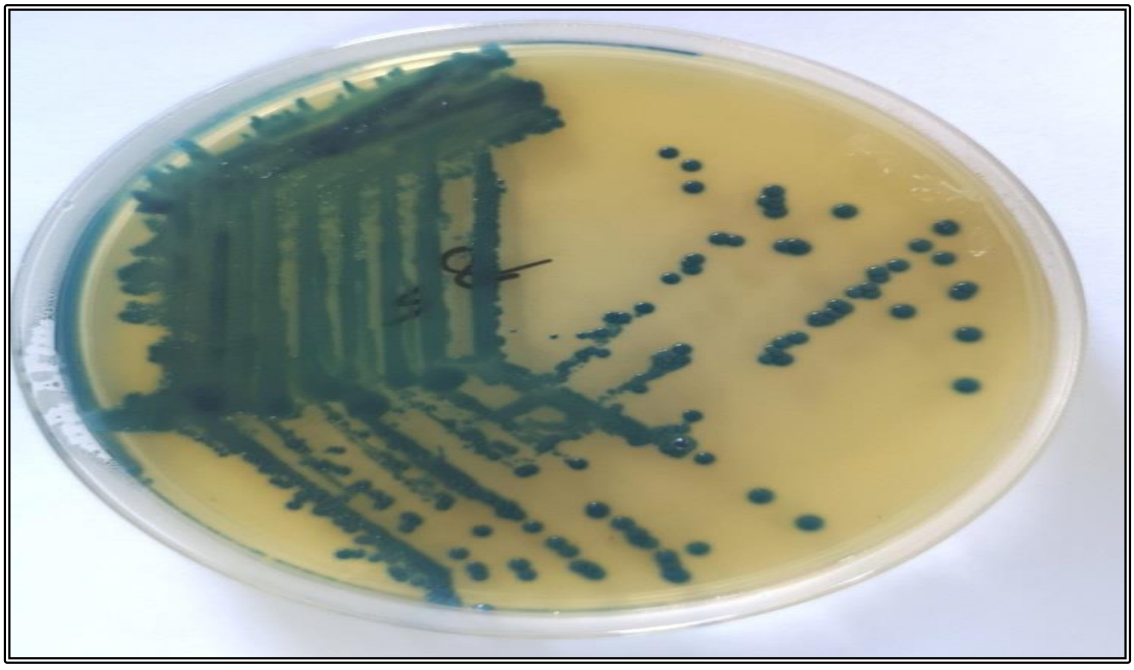
Şekil 4.2 Yanık enfeksiyonlu hastalardan alınan toplam bakteri izolatlarının sayıları ve yüzdeleri

Çizelge 4.1 Cinsiyete göre toplam bakteri izolatlarının sayıları

Bakteriyel büyüme	**Sayı**	**Erkek**	**Kadın**
Pseudomonas spp.	31	18	13
K.pneumonia	23	12	11
Staphylococcus spp.	22	11	11
E.coli spp.	11	4	7
Acintobacter spp.	8	3	5
Enterobacter spp.	5	3	2
Proteus spp.	3	2	1
Total	103	53	50

Çizelge 4.2 23 *K. pneumoniae* izolatının morfolojik ve biyokimyasal testleri

Test	**Sonuç**
Gram boyama	Gram negatif
MacConkey agarda büyüme	Pembe ve mukoid koloni
Kapsül oluşumu	+
Laktoz fermentör	+
Katalaz	+
Oksidaz	-
Hareketlilik	-
Indol üretimi	-
Metil kırmızısı	-
Voges-Proskauer	+
Simmons sitrat	+
Üreaz	+
Üçlü Şeker Demir Agar	Gazlı Asit / Asit.
Krom agarda büyüme	Metalik yeşil koloniler
Vitek®2 sistemi	*K.pneumoniae*



Şekil 4.3 *Klebsiella pneumonia'nın* tek metâlik yeşil kolonileri, 24 saat 37°C'de krom agar üzerine

4.3 Antibiyotik Duyarlılık Testi

Bu çalışmada 23 izolata karşı 12 antibiyotik kullanılmaktadır, Çizelge 4.3'de gösterildiği gibi. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları, 23 izolatın tümünün Amoksisilin ve Seftriaksona karşı tam dirençli (%100) ve Amoksisilin + Klavulanik aside (%91,3) yüksek dirençli olduğunu kanıtlamaktadır. Diğer yandan sonuçlar, K. pneumonia'nın sırasıyla Cefotaxime, Ceftazidime, Tetracycline, Tobramycin ve Ciprofloxacin'e (%73.9), (%43.4), (%69.5), (%60.9) ve (%47.8) karşı direnç gösterdiğini gösterdi. Levofloksasin (%17,1), Gentamisin (%13) ve Amikasin'e (%4,3) karşı düşük direnç varken, Imipenem 23 izolatın üremesini inhibe eden tek antibiyotiktir.

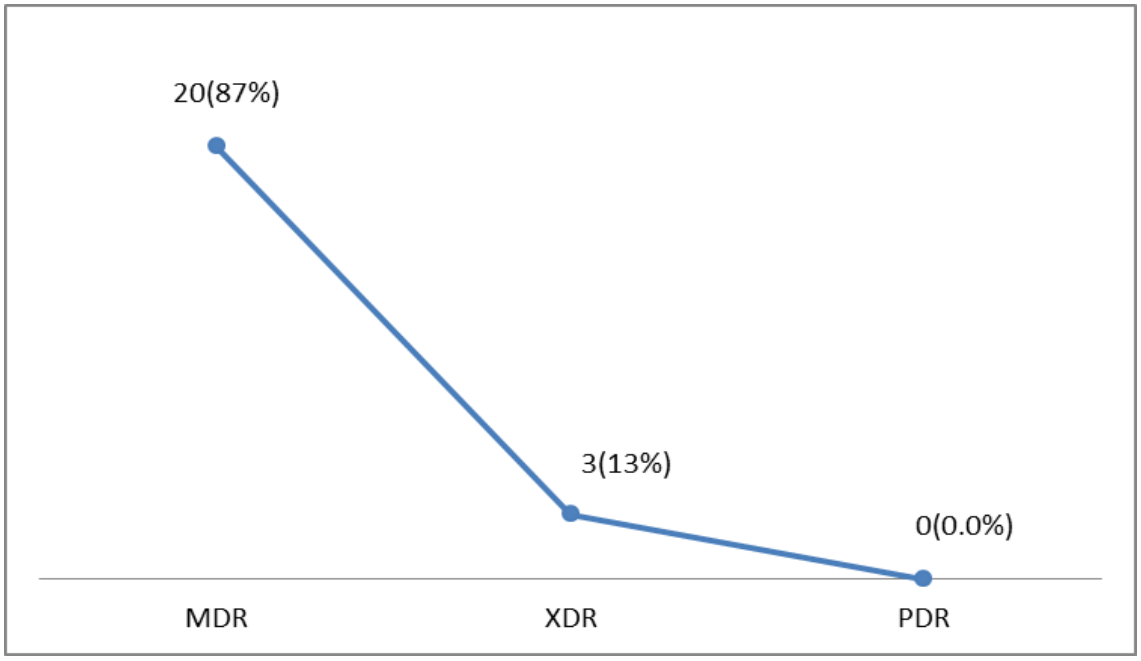
Çizelge 4.3 23 *Klebsiella pneumoniae* izolatının antibiyotik duyarlılık testi

Antibiyotikler	**Duyarlı N (%100)**	**Orta Duyarlı N (%100)**	**Direnç N (%100)**
Amoksisilin 25 µg	0 (%0)	0 (%0)	23(%100)
Amoksisilin + Klavulanik asit 20+10 µg	2 (%8,7)	0 (%0)	21 (%91,3)
Sefotaksim 30 µg	5(%21,7)	1 (%4,4)	17 (%73,9)
Seftazidim 30 µg	8 (%34,8)	5 (%21,8)	10 (%43,4)
Seftriakson 30 µg	0 (%0)	0 (%0)	23(%100)
Levofloksasin 30 µg	13 (%56,8)	6 (%26,1)	4 (%17,1)
Imipenem 10 µg	20 (%87)	3 (%13)	0 (%0)
Tetrasiklin 30 UI	7 (%30,5)	0 (%0)	16 (%69,5)
Siprofloksasin 5 µg	7 (%30,8)	5 (%21,7)	11 (%47,8)
Gentamisin 15 µg	19 (%82,7)	1 (%4,3)	3(%13)
Amikasin 30 µg	22 (%95,7)	0 (%0)	1 (%4,3)
Tobramisin 10 µg	5 (%21,7)	4 (%17,4)	14 (%60,9)

4.3.1 Direnç türü

Toplam 23 izolattan sonuçlar, *K.pneumoniaenin* 20 izolatının (%87) çoklu ilaç direnci MDR olduğunu gösterdi (bakteriyel izolat en az 3 farklı antibiyotik sınıfına dayanabilir). Ayrıca sonuç, 23 k.pneumoniae izolatından XDR olarak 3 izolat (%13) olduğunu gösterdi (bakteriyel izolat sadece bir veya iki antibiyotik sınıfına duyarlı kalır). Öte yandan sonuç, hiçbir izolatın PDR (tüm antibiyotik sınıflarında tüm alt

sınıflara karşı bakteriyel izolat direnci) olmadığını göstermiştir, Şekil 4.4'de gösterildiği gibi.



Şekil 4.4 *K.pneumoniae'nin* 23 izolatının direnç türü sayıları ve yüzdeleri

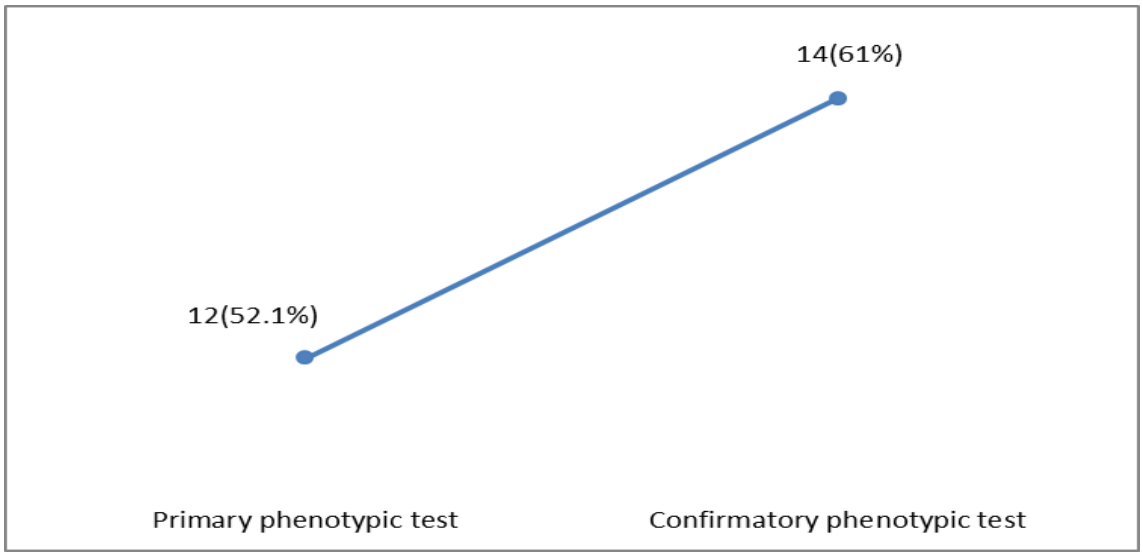
4.3.2 Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üretiminin fenotipik testi

4.3.2.1 Birincil fenotipik testi

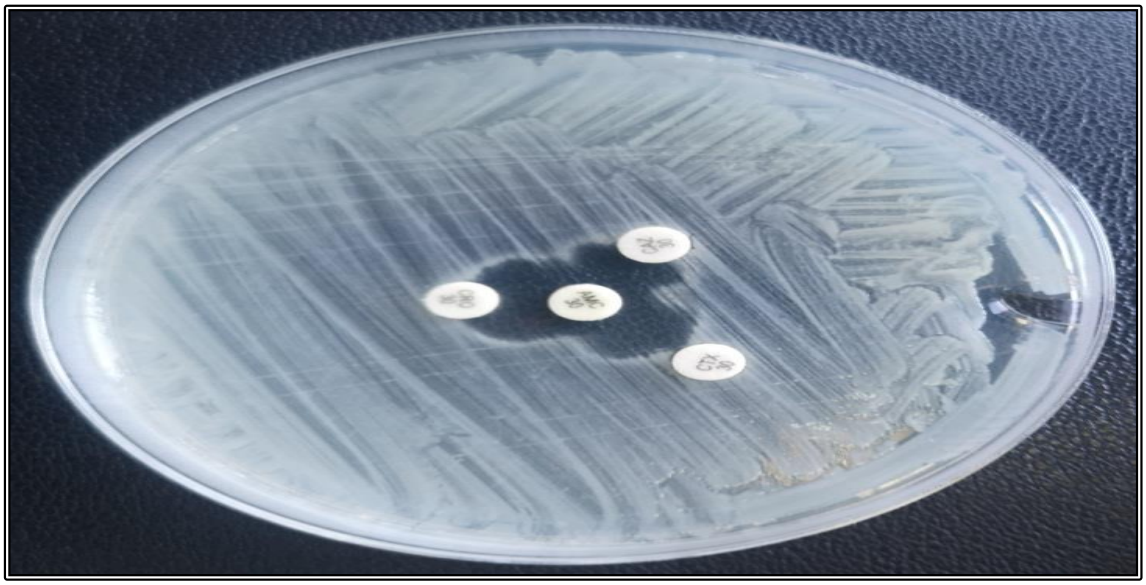
Bu test, Ceftazidime, Cefotaxime ve Ceftriaxone çevresindeki inhibisyon bölgesinin boyutuna göre gerçekleştirildi. Pozitif sonuç, inhibisyon bölgesinin boyutuna göre aşağıdaki gibi görünmelidir: seftazidim ≤22 mm, sefotaksim ≤27 mm ve seftriakson ≤25 mm. Sonuçlar, toplam 23 izolattan 12 izolatın (%52,1) ESBL üretme kabiliyetine sahip olduğunu göstermektedir.

4.3.2.2 Doğrulayıcı fenotipik testi

Bu test, Çift Disk Sinerji Testine (DDST) göre yapılmaktadır. Sonuçlar, 23 izolattan ESBL üretebilen 14 izolatın (%61) olduğunu kanıtlamıştır, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'de gösterildiği gibi.



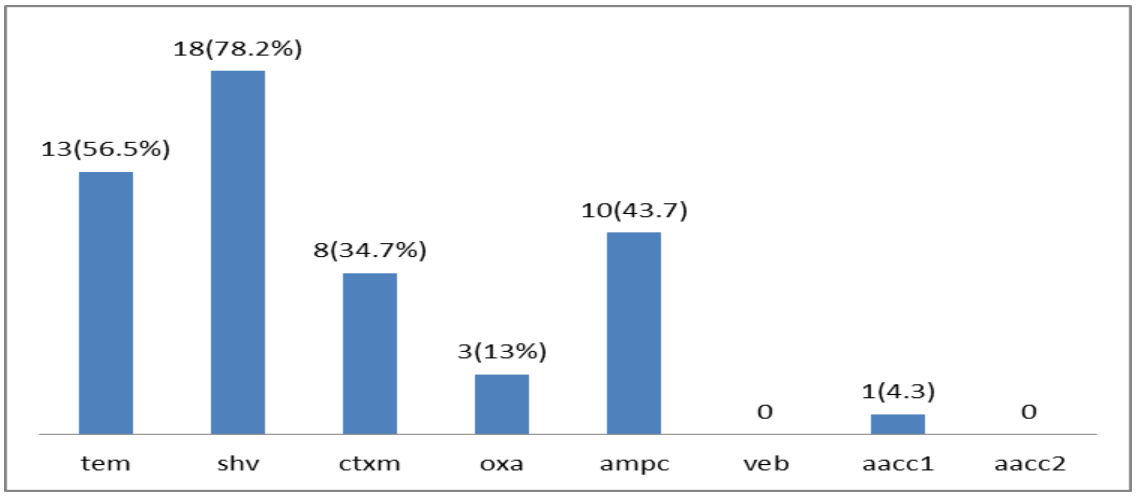
Şekil 4.5 Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz üretiminin fenotipik testi



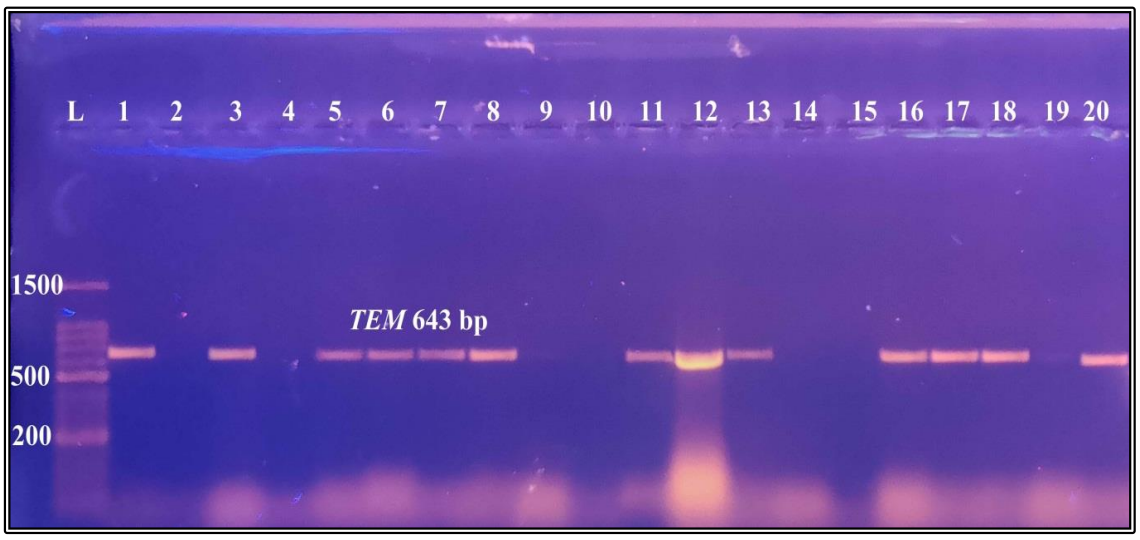
Şekil 4.6 Çift Disk Sinerji Testi ile K.pneumoniae için ESBL'nin fenotipik doğrulama testi

4.4 Antibiyotik Direnci İle İlişkili Genlerin Moleküler Tespiti

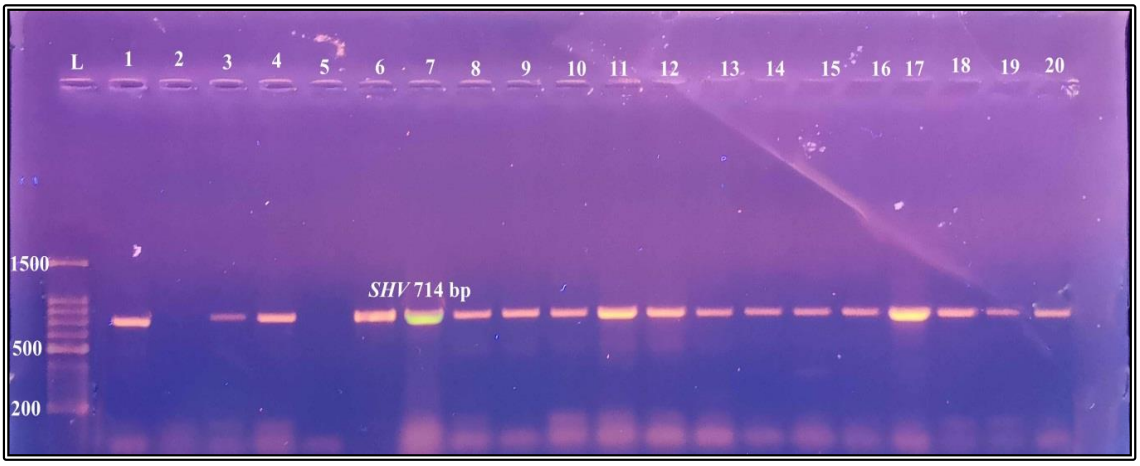
Antibiyotik direnci ile ilişkili genlerin moleküler tespitinin tüm sonuçları Şekil 4.7'de gösterilmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, 23 izolattan 13 izolatın (%56,5) gen taşıdığını gösterilir (Şekil 4.8). Sonuçlar 18 izolatın (%78,2) shv geni için pozitif olduğunu kanıtladı (Şekil 4.9).



Şekil 4.7 Yanık enfeksiyonlu hastalardan izole edilen *K.pnömoni*de antibiyotik direnci ile ilişkili genlerin sayıları ve yüzdeleri

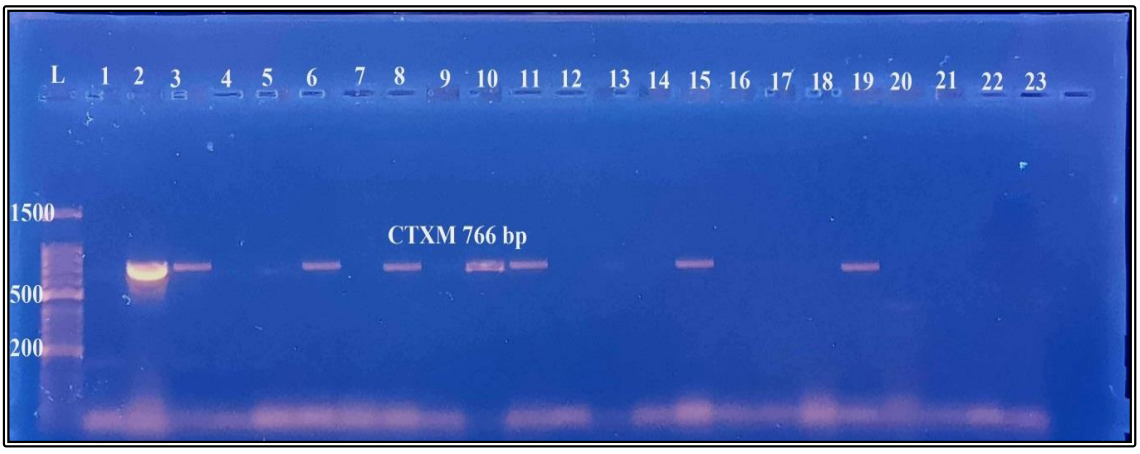


Şekil 4.8 Tanısal tem geni ile amplifiye edilmiş klebsiella pneumoniae'nin ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 643 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)

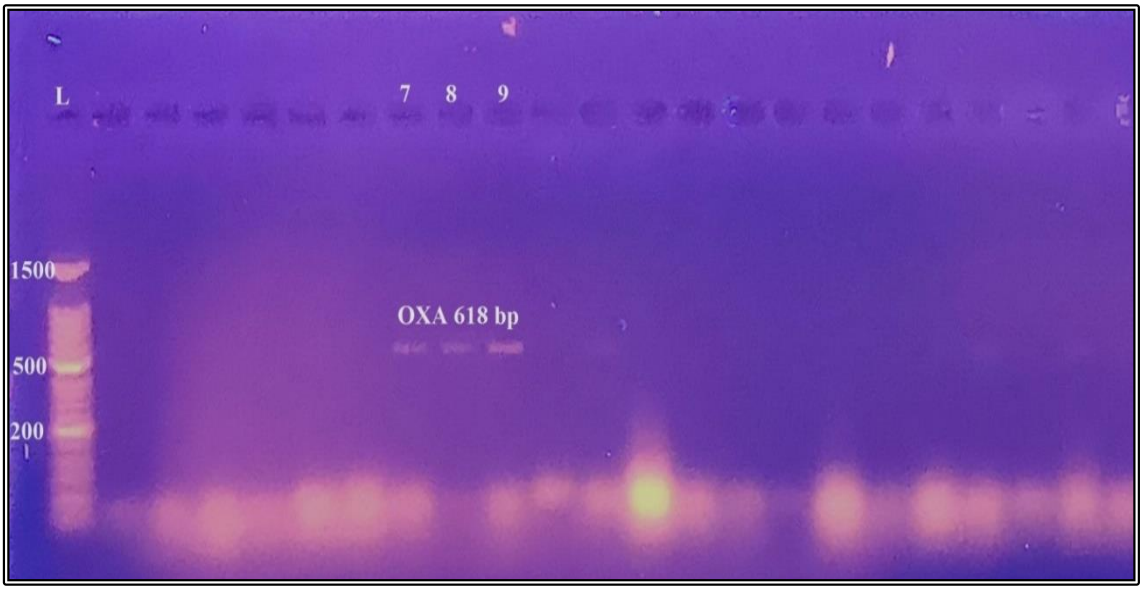


Şekil 4.9 Tanısal *shv* geni ile amplifiye edilmiş *Klebsiella pneumonia'nın* ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 714 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)

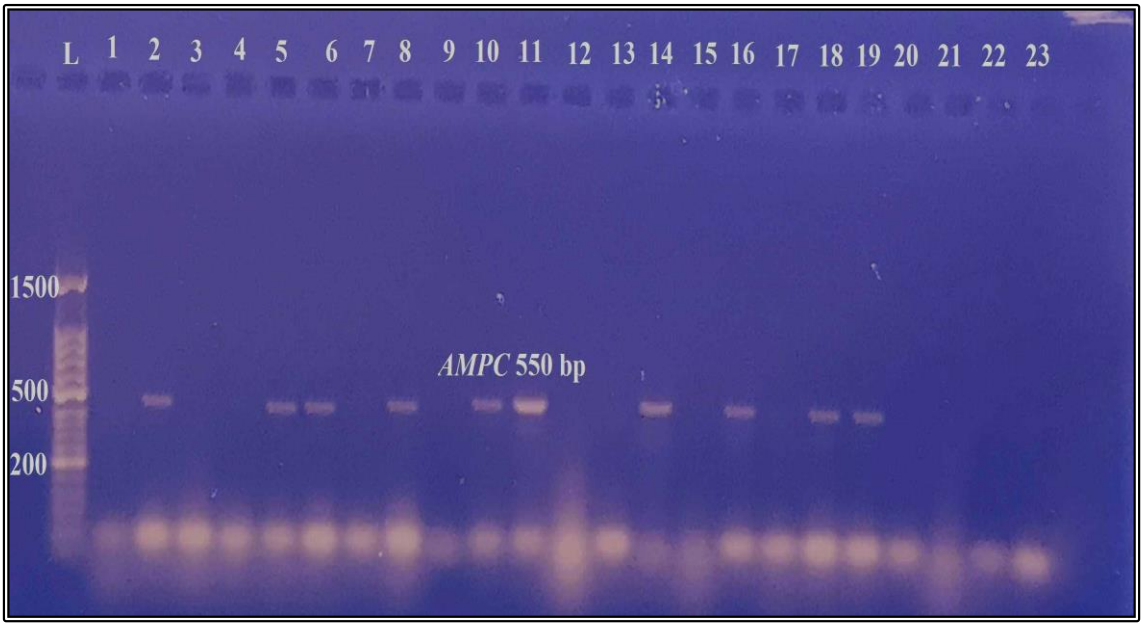
Öte yandan, sonuçlar sadece 8 izolatın (%34,7) *ctxm* geni barındırdığını ve üç izolatın (%13) oxa geni için pozitif olduğunu gösterdi, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de gösterildiği gibi. Ayrıca sonuçlar *ampc* geni için pozitif olan 10 izolatın (%43,7) olduğunu gösterir. Toplam 23 izolattın hiçbirinde veb geni saptanmamıştır. Öte yandan, sonuçlar sadece bir izolatın (%4,3) *aacc1* barındırdığını saptanmış ve hiçbir izolatta *aacc2* geni saptanmamıştır, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'de gösterildiği gibi.



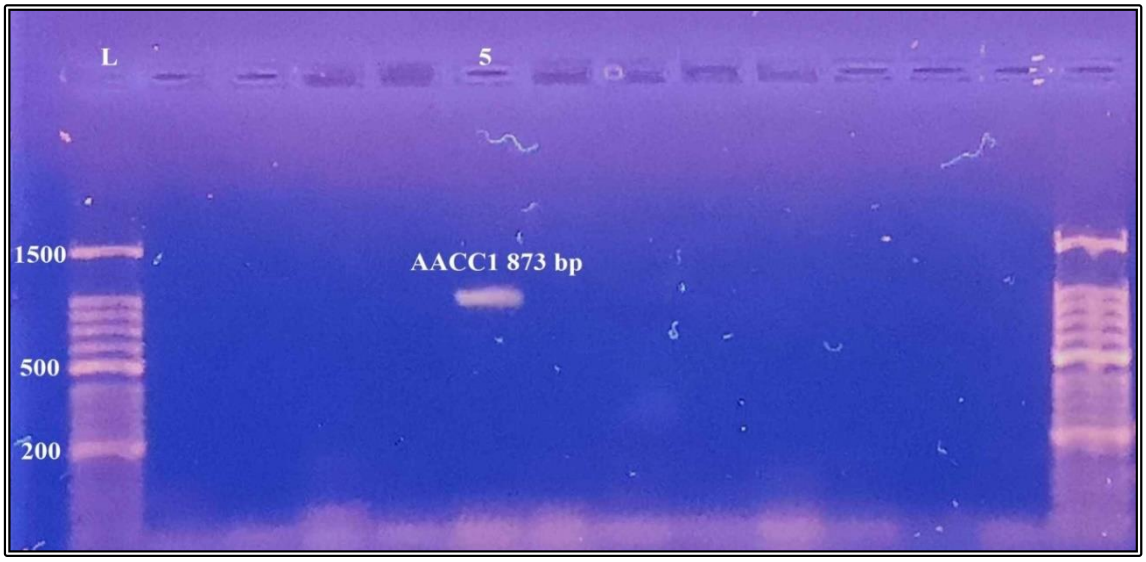
Şekil 4.10 Tanısal *ctxm* geni ile güçlendirilmiş klebsiella pneumoniae'nin ekstrakte edilmiş toplam dna'sından PCR ile güçlendirilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 766 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)



Şekil 4.11 Tanısal *oxa* geni ile amplifiye edilmiş *Klebsiella pneumonia'nın* ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 618 bp'de pozitif sonuçlar gösterir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)



Şekil 4.12 Tanısal *ampc* geni ile amplifiye edilmiş *klebsiella pneumoniae'nin* ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 550 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)



Şekil 4.13 Tanısal *aacc1* geni ile amplifiye edilmiş *klebsiella pneumoniae'nin* ekstrakte edilmiş toplam DNA'sından PCR ile amplifiye edilmiş ürünlerin agaroz jel elektroforezi, 873 bp'de pozitif sonuçlar göstermektedir. Elektroforez 80 voltta 90 dakika süreyle yapılır. (L): DNA moleküler boyut işaretçisi (1000 bp ladder, 50 ile 1500 bp)

5. TARTIŞMA

5.1 Çalışma Örneklerinin Açıklaması

Yanık yaralanmaları hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde halk sağlığı açısından önemlidir. Etkilenen vücut kısmının fonksiyonel sakatlığı, ciddi yara izi ve kontraktürleri gibi çeşitli komplikasyonlarla ilişkilidir (Jeschke *et al.* 2020). Yanık yaralanmaları cildi büyük ölçüde etkiler (Hofmann *et al.* 2021). Haşlanma (sıcak sıvılar), ateş, radyasyon, açık alev, enerji ve sıcak su şişelerinin tümü yanık kaynaklarıdır (Jeschke *et al.* 2020).

Bu çalışmada, toplam 175 yanık sürüntü çubuğundan 103'ünde (%58,9) sürüntü pozitif bakteri üremesine sahipken, 72 sürüntü çubuğunda (%41,1) üreme olmamıştır. Bu sonuçlar El Hamzaoui vd. (2020) ile uyumludur ve %68,25'lik sürüntülerin pozitif bakteri üremesine sahip olduğunu gösterirken, bu çalışmanın sonuçları, sürüntülerin %97'sinin bakteri üremesi sağladığını ve %3'lük sürüntülerin herhangi bir büyüme göstermediğini gösteren Hindistan'daki başka bir çalışma ile uyuşmamaktadır (George *et al.* 2015).

Öte yandan bu çalışmanın bulguları, erkeklerde ve kadınlarda enfeksiyon prevalansının neredeyse benzer olduğunu ortaya çıkartmıştır. Sonuçlar, yanık enfeksiyonlu 103 hastadan izole edilen bakteri üremesinin sayı ve oranlarının 53 (%51) erkek ve 50 (%49) kadın olduğunu ortaya çıkartmış.

Sonuçlar, yanık enfeksiyonlu 103 hastadan izole edilen bakteri üremesinin sayı ve oranlarının 53 erkek ve 50 kadın olduğunu ortaya koyarken, Jauhari vd. (2020) yaptığı çalışmada toplam 160 hastadan erkek hastaların %60,7, kadın hastalara göre %39,3 olduğunu kanıtlamıştır. Aynı zamanda, 31-40 yaş grubunun %27,5 ile enfeksiyonda ilk yaş grubu olduğunu göstermiş ve toplam 160 sürüntüden 113 sürüntü (%70,6) pozitif kültür varken 47 (%29,4) sürüntüde üreme olmadığını belirtmiştir. Bakteri üremesine

sahip 113 örnek arasında gram-negatif bakteri 68 izolat (%60,2) varken, gram pozitif bakteri 45 izolat (%39,8) idi.

5.2 Bakteri İzolatlarının Tanımlanması

Hem gelişmekte olan hem de gelişmekte olan ülkelerde ve her yaş grubunda da en yaygın sakatlık ve ölüm kaynağı hala yanık enfeksiyonlarıdır (Spronk *et al.* 2020). Büyük yanıklar, bağışıklık sistemlerinin lokal ve sistemik baskılanmasına yol açar. Yanık yara yüzeyi de, cilt yüzeyinin bozulması nedeniyle mikrobiyal kolonizasyon ve proliferasyon için en uygun koşulları sağlar. Yara vaskülaritesi, bozulmuş göç nedeniyle konakçı hücrenin korumasını azaltır, bu da antimikrobiyal beslemeyi sınırlar ve konakçı bağışıklık tepkisini zayıflatan toksik maddeler salgılamaktadır (Colín-Castro *et al.* 2021).

103 klinik örnekten 31 (%30) izolat *Pseudomonas aeruginosa*, 23 (%22,3) izolat *K. pneumoniae* idi. Aynı zamanda, 103 örnekten sadece 22'si (%21,4) *Staphylococcus spp'ya* aittir ve 11 (%10,6) izolat ise *E. coli'dir*. 8 izolat (%7,8) *Acinetobacter spp*. (3 erkek ve 5 kadın) ve 5 izolat (%4,9) *Enterobacter spp* (3 erkek ve 2 kadın) varken, en düşük prevalans izolatı 3 izolat (% 3) (2 erkek ve 1 kadın) ile Proteus spp. olmuştur. Bu sonuçlar López-Jácome vd. (2020) Gram-negatif bakteriler için %59,1 büyüme olduğunu gösterdiği sonuçlara benzer. Çoklu ilaca dirençli Pseudomonas aeruginosa, en sık mikroorganizma izolatlarıdır. Mevcut çalışmanın sonuçları (M Hamdoon *et al.* 2011) baskın bakterinin %50 ile P. aeruginosa olduğunu bulduğu sonucu ile uyumludur.

Bu çalışmanın sonucu, pozitif bakteri üremesinin bakteri üremesinin olmamasından daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, bakterilerin % 86'sının kültür pozitif ve %14'ü ise kültür negatif olduğunu bulan Forson *et al.* (2017) ile benzerdir ve baskın bakteri izolatlarının %30,2 ile Pseudomonas spp olduğunu belirtmiştir.

MacConkey agar, gram pozitif bakterilerin büyümesini engelleyen safra tuzları ve kristal viole içerdiğinden, Enterobacteriaceae ve ilişkili enterik gram negatif bakteriler

için farklı bir besiyeridir. Laktoz, MacConkey agarda bulunur. Laktoz fermantasyonu pembe koloniler üretirken, laktoz içermeyen fermantasyon renksiz veya yarı saydam koloniler üretmektedir (Al Najım *et al*. 2020).

Besleme örneklerindeki daha yüksek bakteri konsantrasyonları, son yıllarda steril çalışma ortamlarının yerini almıştır. Bununla birlikte, mikrobiyolojinin tanımlama süreci için saf kolonilerin hazırlanması, tipik bir gece kültür plakalarının kullanılmasını gerektiren bir sorun olmaya devam etmektedir. Sonuç olarak, teşhis süreci örneklemeden hemen sonra başlamamaktadır (Lawrence 2018). Ayrıca yanık izolatlarından *K. pneumoniae* izolatlarının tespiti için biyokimyasal testler yapılmıştır. Biyokimyasal testler; indol testi, metil kırmızısı, Voges-Proskauer, sitrat kullanımı, üreaz üretimi, şeker fermantasyonu, üçlü şekerli demir üzerinde H_2S üretimi, Oksidaz, Katalaz ve motilite testidir (Islam 2018).

Hashim (2018) Bağdat'ta *K. pneumoniae'nin* %22,4 ile izole edildiğini kanıtlamış ve bu sonucun bireysel olarak incelenen sayıların artmasına ve bu tür patojenlerin baskın olarak daha yüksek olmasına katkıda bulunmaktadır.

VITEK-2, klinik mikrobiyologların tıbbi açıdan önemli bakterileri daha hızlı ve güvenilir bir şekilde sınıflandırmasına yardımcı olarak daha güvenli ve daha uygun maliyetli hasta bakımı sağlanır. Yüksek düzeyde yapılandırılmış bir ticari tanımlama sistemi için en önemli değerlerden birinin, üreticinin sistemin performansını koruma ve hatta geliştirme becerisi olduğu vurgulanmaktadır.

5.3 Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

Çizelge 4.3'deki antimikrobiyal duyarlılık testine göre toplam 12 farklı antimikrobiyal kullanılacak. Yanık enfeksiyonundan 23 izolatın antimikrobiyal direnç oranları, Amoksisilin ve Seftriaksona karşı %100 tam dirençli ve Amoksisilin + Klavulanik aside %91,3 yüksek direnç gösterirken, Imipenem 23 izolatın tümünde inhibe edilen tek antibiyotiktir.

Bu sonuçlar, *K. pneumonia'nın* Amoksisilin, Cefotaxime, Siprofloksasin ve Gentamisine karşı sırasıyla %20, %0, %70 ve %40 direnç gösterdiğini bulan Al Sanjeeet vd. (2020) ile benzer değildir. Mariya ve Hatkar (2015) tarafından yapılan başka bir çalışmada *K.pnömoni'nin* amikasine %31,95 dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları, amoksisilin + klavulanik aside dirençli %94,7 izolat olduğunu bulan Luangtongkum vd. (2009) tarafından yapılan çalışma ile uyumludur.

Bu araştırma, amoksisilin 25g ve amoksisilin + klavulanik asit 20 + 10g için maksimum direnç oranların %97,67 ile gözlendiğini ve en düşük direnç oranlarının imipenem 10g için (%9,30) gözlemlendiğini keşfeden Aljanaby ve Alhasnawi (2017) ile aynı fikirdedir. Klebsiella pneumoniae'nin antibiyotik direnci iyi bilinmektedir. Bu bakteri, yatay olarak diğer gram-negatif bakterilere aktarılabilen bir dizi antibiyotik direnç genine sahiptir ve hastanelerde bir dizi nozokomiyal enfeksiyonla ilişkilendirilmektedir (Ranjbar *et al.* 2016).

Antibiyotik direnci, dünya çapında bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde önemli bir klinik endişe olduğundan, her iki izolatın da Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen bir antimikrobiyal ajan listesine direnç olup olmadığı kontrol edildi. Çoklu ilaca dirençli (MDR) bir suş, üç veya daha fazla antibiyotik sınıfına dirençli olandır (Anonymous 2017).

Klinik tıpta antibiyotiğe dirençli patojenlerin seçimine ve yaygınlaştırılmasına yol açan çoklu ilaç direncinin gelişmesini teşvik eden en önemli faktör, duyarlılık testi yapılmadan antibiyotik kullanımıdır (Hernando-Amado *et al.* 2019).

Bakterilerin neden olduğu birçok enfeksiyon türü için antibiyotikler en çok kullanılan tedavi yöntemlerinden biridir. Antibiyotiğe dirençli patojenlerin hızlı gelişmesi sorunu, tedavilerin etkililiğini devre dışı bırakır ve dolayısıyla halk sağlığı açısından tehlikeli bir konu haline gelmektedir (Borges *et al.* 2016). Şu anda önemli bir sağlık, sosyal ve ekonomik sorundur. Yaygın tedaviler genellikle bu antibiyotiğe dirençli bakterilerin neden olduğu hastalıkları tedavi edemez, bu nedenle olası etkili çare oranını azaltır ve virülan enfeksiyonlarda patojenite ve ölüm oranlarını artırır (Collignon *et al.* 2009).

Kazanılmış direnç ve doğal direnç olmak üzere iki tür antibiyotik direnci vardır (Landecker 2016). Doğal direnç, bir organizmanın kalıtsal özelliklerinden dolayı antibiyotik etkilerinden kaçınma yeteneğini ifade eder. Bu tür bir dirence örnek olarak, yüzeyinde spesifik antibiyotik reseptörüne sahip olmadığı için *E. coli* gibi bir G bakterisinin Penisilin G'ye kalıtsal direnci vardır (Lewies *et al.* 2019). Edinilmiş direnç ise bir organizmanın genetik materyallerinin niteliğindeki bir değişiklik olarak tanımlanır ve mikroorganizmaların kendilerini mutasyon yoluyla antibiyotiklere karşı korumak için kullandıkları bir mekanizmadır (Bengtsson-Palme *et al.* 2018). HGT (Yatay Gen transferi), bakterilerin dirençli genlerini bir donör bakteriden alarak elde etmelerinin yoludur (Soucy *et al.* 2015). Necef ilinde Gram-negatif bakterilerle kontamine olan hastalara gözlemsel antibiyotik olarak üçüncü kuşak sefalosporinler verilmiştir. Bununla birlikte, Enterobacteriaceae arasında, bu antibiyotik sınıfına karşı artan bir direnç modeli gözlemlenmiştir (Nasser *et al.* 2020).

Aminoglikosit modifiye edici enzimler (EMA'lar), asetilazlar, fosforilazlar ve adenilazlar gibi antibiyotik etkinliğini azaltabilen bir dizi modifiye edici enzimin ifadesi, enterobacteriaceae ve diğer gram-negatif çubuklarda yaygındır. Diğer direnç yolları şunları içerir: zarların bakteriyel geçirgenliğinde iyileşmeler ve ribozomal proteinlerdeki değişiklikler (Fernández-Martínez *et al.* 2018).

Bununla birlikte, Siprofloksasin ve diğer kinolonlar, olgunlaşmamış eklemlere zarar verme riski nedeniyle çocuklar için onaylanmamaktadır. Florokinolon direnci, DNA girazındaki mutasyonlarla ve/veya çeşitli bakterilerde çoklu ilaca dirençli dışa akım pompalarının aşırı ekspresyonuyla ilişkilendirilir. Çoklu ilaca dirençli akış pompaları, insan patojenlerinin ilaçlara karşı doğal ve edinilmiş direncinde önemli bir rol oynar (Mogle *et al.* 2018).

Tetrasiklin, çok çeşitli Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı etkili olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Aynı zamanda Tetrasiklinler, tRNA'nın 30S rRNA'nın A bölgesine bağlanmasını önleyerek, mRNA kodunun yanlış okunmasına neden olarak veya protein sentezinin başlangıç aşamasını inhibe ederek çalışır (Allas 2017).

İzolatların antibiyotiklere karşı direncinin gelişmesinden antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı sorumludur; bu nedenle antimikrobiyallerin rasyonel uygulaması, mevcut antimikrobiyal maddelerin kötüye kullanımını azaltmak için vurgulanmalıdır. Ayrıca, antimikrobiyal duyarlılık yoluyla direnç eğilimlerini düzenli olarak izlemek önemlidir. Uygun bir ulusal ve eyalet antibiyotik politikasının ve taslak eylem planının uygulanması, antibiyotik etkinliğini korumalı ve hasta yönetimini iyileştirmelidir.

Çalışma, yanıklı hasta izolatlarında ESBL tarafından oluşturulan yüksek antibiyotik direnci ve K. pneumonia suşu prevalansının, üçüncü kuşak B-laktam, aminoglikozit ve sefalosporinler gibi geleneksel antimikrobiyallerin aşırı kullanımından kaynaklanabileceğini bulmuştur (sefotaksim, seftriakson ve seftazidim).

Öte yandan Kandela (2011) *K.pneumonia* izolatlarının sefotaksim ve seftriaksona %80, üçüncü kuşak sefalosporin (3GC)'e ise yüksek direnç gösterdiğine dair en çarpıcı sonuçlardan birini göstermiştir, ancak seftazidime orta derecede dirençliydi (%60). Fouzia ve Damle (2015) birçok *K. pneumoniae* izolatının (%80) üçüncü kuşak sefalosporin ve diğer antibiyotiklere dirençli olduğunu keşfetmiş, bu da bunların çoklu ilaca dirençli suşlar olduğunu göstermiştir. En yaygın neden, doğal koşullar altında her iki yönde de çeşitli Klebsiella suşları arasında ve ayrıca çevresel ve terapötik suşlar arasında genlerin ve genetik elementlerin konjugal geçişidir (Al-Yasseen 2004).

Al Mahrezi vd. (2014) gibi diğer çalışmaların sonucu, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *K.pneumoniae'nin* ampisilin, amoksisilin ve kloramfenikole son derece dirençli olduğunu ve bu da diğer bakteri türlerine yatay gen transferi riski nedeniyle ciddi halk sağlığı sorunlarına yol açabileceğini göstermiştir.

Diğer çalışmalar, Lari vd. (2012) *K. pneumoniae'nin* sefotaksim (%91), tobramisin (%86), tetrasiklin (%80), gentamisin (%72), amikasin (71%), amoksisilin / klavulonik asit (%71), kloramfenikol (%63) ve imipenem (%54) gibi farklı antibiyotiklere dirençli olduğunu göstermiştir. Mariya ve Hatkar (2015) tarafından yapılan çalışmada, K. pneumoniae'nin amikasin (%31,95), nitrfurantoin (%52,78), imipenem (%0,0), seftriakson (%54,17), sefotaksim (%61,1) ve seftazidim (%62,5) gibi birçok

antibiyotiğe dirençli olduğunu bildirilmiştir. Mevcut çalışmanın sonuçları, *K. pneumoniae'nin* 20 (%74,41) izolatının MDR olduğunu gösterilmektedir **(**Şekil 4.4**).** Sikarwar ve Batra (2011) *K. pneumoniae'nin* klinik izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık açısından test edildiğini ve çoğunun çoklu ilaca dirençli olduğunu göstermiştir. *K. pneumoniae* çoklu ilaç ve ESBL geliştiren suşlar, yanıklardan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında önemli olduğu ve beta-laktam antimikrobiyal *K. pneumoniae'ye* artan toleransla büyük ölçüde bağlantılı olduğunu bulunmuştur.

Öte yandan, birçok araştırmacı idrar yolu enfeksiyonları, yanıklar, cilt enfeksiyonları, bakteriyemi, bölgedeki cerrahi enfeksiyonlar, solunum yolu enfeksiyonları ve diğer hastane enfeksiyonları gibi MDR enterik bakterileri de Klebsiella pneumoniae gibi temel giriş bakterileri olarak tanımlanmaktadır (Khorshidi *et al.* 2011).

K. pneumoniae genellikle bir sağlık kurumunun kurulmasından izole edilir ve günümüzde büyük bir zorluk haline gelen MDR olarak dikkat çekicidir (Rampure *et al.* 2013). Bu bakteri, MDR *K. pneumoniae* potansiyeli nedeniyle hayati bir nozokomiyal patojene sahiptir (Ramirez *et al.* 2012). Bu izolatlar genellikle β-laktam ve kinolonlar gibi iki ayrı antibiyotik grubuna karşı dayanıklıdır. En son mutant suşlarının üretilmesiyle, MDR *K.pneumoniae'nin* antimikrobiyallere karşı giderek daha dirençli hale geleceği tahmin edilmektedir.

Direncin birincil nedeni, bakterileri beta laktam antibiyotiklerin hücre duvarı sentezi üzerindeki öldürücü etkisinden koruyan beta-laktamaz enziminin gelişmesidir (Slater *et al.* 2020). Beta-laktamaz hidrolizi, klinik açıdan önemli olan Gram-negatif bakterilerde bu antibiyotik sınıfına karşı en yaygın olarak bulunan tolerans yöntemidir (Bush and Jacoby 2010). β-laktam içeren bazı antibiyotiklerin başka çalışma modları vardır. Bu, hücre zarfında, örneğin hücre lizizine neden olan otolitik enzimlere yol açabilir. Ek olarak, β-laktam antibiyotiklerin aktivite aralığı farklıdır, çünkü bazıları gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkili geniş spektrumlu antibiyotikler olduğundan, bazıları sadece aerobik Gram negatif ürünleri etkileyen monobaktamlar gibi dardır (Jensen *et al.* 2019).

Birkaç β-laktam suşuna sürekli maruz kalma, bu bakterilerde dinamik ve sürekli olarak β-laktram sentezine ve dönüşümüne yol açmıştır, böylece yeni oluşan β-laktam antibiyotiklere göre etkinliklerini arttırmıştır. Bu enzimler geniş spektrumlu β-laktamazlar (ESBL'ler) olarak sınıflandırılır (Pitout and Laupland 2008).

Aminoglikozitler olarak bilinen antibiyotikler, güçlü bir bakterisidal etkiye sahip bir antibiyotik şeklidir. Aminoglikozitlere karşı bakteriyel tolerans, en önemlisi bir enzim ailesi tarafından inaktivasyon olan çeşitli mekanizmalardan kaynaklanır. Aminoglikozid direnci, ribozom hedef mutasyonları ve daha yaygın olarak ribozom metiltransferaz enzimlerinin bir ailesi tarafından ribozom modifikasyonu ile de gerçekleştirilebilir (Wilson 2014).

Quinolonlar, hastalıklarla savaşmak için kullanılan geniş spektrumlu antibakteriyeldir, bu da son birkaç yılda kuinolonlara karşı tolerans derecesinin artmasına neden olmuştur, örneğin, siprofloksasin gibi florokinolonlar, tarihsel olarak *K. pneumoniaenin* klinik izolatlarına karşı mükemmel bir etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir (Raei *et al.* 2014). Ayrıca, yatay transfer potansiyeli ile Plazmid aracılı kinolon direnci için üç mekanizma tarif edilmiştir: Qnr genleri (3) bir kinolon koruyucu mekanizmayı kodlar; aac (60) -Ib-cr geni değiştirici bir enzimi kodlar; ve qepA geni bir dışarı akış pompasını kodlar (Magesh *et al.* 2011).

5.4 Genişletilmiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Üretimi

Yaygın olarak plazmitler tarafından kodlanan genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) genleri, beta-laktam toleransına neden olur (Jiang *et al.* 2019). Mevcut örnekte genişletilmiş spektrumlu beta-laktamların gelişimini analiz etmek için birincil ve doğrulayıcı deneyler kullanılmaktadır. Seftazidim, sefotaksim ve seftriakson çevresindeki inhibisyon bölgesinin ölçeği birincil testte ölçülmüştür. Bu çalışmada, sonuç 14 izolatın (%61) ESBL üreten *K. pneumoniae* olduğunu ortaya koydu (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).

Öte yandan, *K.pneumoniaenin* %80'ini buldukları Kandela (2011) bakteri üreten genişletilmiş spektrum beta-laktamlardı. Ancak Al-Azawi (2014) Al-Qadisiya Üniversitesi'nde üriner sistem enfeksiyonu olan hastalardan elde edilen K. pnömonisinin 11 izolatının (%36.7) ESBL ürettiğini ortaya koymuştur.

Orta Doğu'dan çeşitli araştırmalar, ESBL üreticilerinin yaygınlaşmasının ne kadar aşırı olduğunu göstermiştir (Zowawi *et al.* 2014). Fouzia ve Damle (2015)'nin tarafından yayınlanan bir rapora göre, ESBL pozitif izolatlar, yüksek çoklu ilaç direnci seviyelerine sahiptir ve Klebsiella pneumoniae geliştiren ESBL prevalansı yüksektir (%90,13). Rampure *et al.* (2013) *K. pneumoniae* bakterilerinin yaklaşık %70'inin genişletilmiş spektrum beta-laktamlar ürettiğini buldu.

Çoğunlukla plazmitler tarafından kodlanan geniş spektrumlu beta-laktamazlar, *K. pneumonia* izolatlarına ve yeni geniş spektrumlu -laktam antimikrobiyallere karşı diğer G-bakteriyel dirence aracılık eden en yaygın -laktamazlardır (Eltai *et al.* 2018, Fernandes *et al.* 2014). Birçok araştırmacılar, özellikle *K. pneumoniae* ve *E. coli* arasında olmak üzere çok sayıda klinik ortamda %6 ile % 88 arasında değişen ESBL prevalansını bildirmiştir (Shahid *et al.* 2011). bla-tem ve bla-shv genleri; *Klebsiella* türler, Enterobacter türler ve *E. coli'de* bulunan en yaygın genlerdir (Mondal *et al.* 2019).

En yaygın ESBL üretici bakteri olan K. pneumoniae olup, shv tipi ve tem K. Pnömoni'de yaygın olan ESBL formlarıdır (Zaniani *et al.* 2012). Uzun süreli beta-laktamaz üretimi K. pnömonisi dünyanın çeşitli bölgelerinde hızla yayılmıştır ve enfeksiyonlar için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Ghafourian *et al.* 2011).

Tem ve *shv* gibi normal beta-laktamase genlerindeki antimikrobiyal direnç modellerinin moleküler ESBL yöntemlerini kullanarak, epidemiyolojisi hakkında değerli bilgiler sağlayabilir ve mantıksal antimikrobiyal tedaviye yardımcı olabilirler (Preetthi 2015). Bakteriyel suşlar, en yaygın kullanılan antibiyotiklere daha uzun süreler boyunca maruz kalır. Enfeksiyonlarla savaşmak için beta-laktamların kullanılması, bakterilerde yeni

oluşan beta-laktamlara karşı genişletilmiş aktivite gösteren *geniş etkili beta laktamaz* adı verilen bir enzimin aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (Ali *et al.* 2018).

ESBL'ler *Klebsiella* türlerinde yüksek oranda oluşur, çünkü bu bakteriye bağlı enfeksiyonlar çok yaygındır ve bir miktar hücre koruması sağlayan kapsüllerin varlığı, çoklu ilaç direncine sahip bir akış pompasının varlığı, direnç plazmidinin elde edilmesi ve yayılmasında daha yüksek verimlilik nedeniyle organizmaya karşı bağışık olma olasılığı yüksektir (Martin and Bachman 2018).

5.5 Antimikrobiyal Direnç Genlerinin Moleküler Tespiti

1965'te gözlemlenen ilk kapsamlı beta laktamaz spektrumlarından biri tem enzimidir. Yunanistan'ın Atina kentindeki Temoneira, adını E. coli ile enfekte olan hastadan alınmıştır (Kaspersen 2015). Bla tem geni normalde plazmitlerde (enzim kodlaması) mevcuttur. Shv enzimleri substrat değişkeni olarak kabul edilmiş ve bu nedenle Değişken Sülfhidrolit'in kısaltması olarak adlandırılmaktadır (Paterson and Bonomo 2005).

Birçok *K. pneumoniae* suşunun kromozomları üzerinde shv enzimleri bulunur, ancak bunlar plazmit aracılı da olabilirler (Miryala *et al.* 2020). *Tem* ve *shv* genlerindeki mutasyonlar, özellikle Klebsiella pneumoniae olmak üzere Enterobacteriaceae ailesinde iyi karakterize edilmiş geniş spektrumlu beta laktamaz enzimlerine yol açmaktadır (Ali *et al.* 2018).

PCR, mevcut araştırmada antimikrobiyallere direnen belirli genlerin moleküler olarak tanınmasını tespit etmek için benzersiz birincil diziler kullandı. Bulgular, direnç genlerinin marka enfeksiyonlarından izole edilen *K. pneumonia'ya* aktarıldığını gösterdi (Şekil 4.7). Bu çalışmada, bla *shv* genini ortaya çıkaran sonuç (78,2%) ve bla *tem* geni (56,5%) (Şekil 4.8, Şekil 4.9) idi. Aljanaby ve Alhasani (2015) sonuçlarında bla *shv* geninin prevalansının %91,66 olduğunu gösterilmiştir. Öte yandan, aynı çalışmada bla

tem geninin prevalansı (%100) idi. Ahmed vd. (2013) aksine *K.pneumoniae* izolatının (%10) bla shv geni için pozitif olduğunu bulmuştur.

üçü ESBL, pozitif ayakta tedavi ve hastane izolatları olmak üzere %43'ünün, 44'ünün (%87) tem, 39'unun (%69,64) shv ve 27'sinin (%48,21), çeşitli klinik örneklerden elde edilen K. pneumoniae'de hem *tem* hem de *shv* olduğunu göstermiştir. *Ctx-m* beta-laktamazlar, seftazidim hidrolizinden ziyade seçici sefotaksim hidrolizi ile karakterize edilir, ancak ctx-m-15 gibi bazı *ctx-m* grupları da hidrolize edilebilir (Mohamed 2018).

Bla genleri, mobil genetik sistemlere dahil edilmiştir ve muhtemelen konjugasyon yoluyla klinik bakterilere aktarılmıştır (Dinatale 2017). Bu bla- *ctx-m* mobilize genler, sefotaksim için olan bu toleransı, seftazidim direncinden çok daha büyük ölçüde geliştirir.

Bu çalışmanın sonuçları ayrıca 8 (%34,7) izolatın bla ctx-m geni için pozitif olduğunu gösterilmiştir (Şekil 4.7). Saudi Arabistan, Mısır, İran, Umman, Lübnan, Körfez Konseyi, Irak, Kuveyt ve Türkiye, *ctx-m* geliştiren *K. pneumoniae* izolatlarının klonal yayılmasını kaydetti (Zowawi *et al.* 2014, Yezli *et al.* 2015).

ctx-m enzim üreten *K. pneumoniae* suşlarının yatay gen transferi ve klonal dağılımı da ctx-m enzimi üreten K. pneumoniae'nin yayılmasından sorumludur. Ayrıca, İYE'ye neden olan çoklu ilaca dirençli *K. pneumoniae'de* ctx-m'yi virülans genleri ile birleştirmek enfeksiyonları şiddetlendirebilir ve tedavinin etkinliğini azaltabilir (Derakhshan *et al.* 2015).

Ekleme dizileri (IS), integronlar ve transpozonlar dahil olmak üzere birkaç bla *ctx-m* genetik elemanının, bu genlerin etrafındaki benzersiz genetik elemanlarla bağlantısı tanımlanmıştır. IS, bu genlerin aşırı ekspresyonuna katılır ve bunlardan bazıları, transpozisyon birimlerinin de eklendiği bitişik bir integron yapıya sahiptir. Bu üst yapılar genellikle plazmitlerde bulunur (Cantón *et al.* 2012). Aksine, mevcut çalışmanın sonuçları sadece 8 izolatın (%34,7) ctxm geni barındırdığını gösterilmiştir (Şekil 4.10).

Ayrıca sonuçta 1 (%4,3) izolatın aacC1 geni için pozitif olduğu (Şekil 4.7 ve Şekil 4.14), 0 (%0) izolatın aacC2 geni için 0 (Şekil 4.15) tespit edilmiştir. Bu sonuç, %1,3 izolatların aacC1 geni için pozitif,% 32.7 izolatların *aacC2* geni için pozitif olduğunu bulan Li vd. (2012) ile benzerliğe sahiptir. Aljanaby ve Alhasani (2015) tarafından elde edilen sonuç, vakaların %27,90'ında *aacC1* geni pozitif bulunurken, vakaların %9,30'unda *aacC2* geni pozitif bulunmuştur. Bu sonuç, mevcut sonuçlarımıza kıyasla yüksek olacaktır, burada elde ettiğimiz sonuçlar, yalnızca bir izolatın (%4,3) *aacc1* barındırdığını, hiçbir izolatın *aacc2* genini içermediğini göstermiştir (Şekil 4.13).

63 izolatın aacc1 ve aacc2 genlerinin varlığı açısından PCR ile taranan tümü, 8'i aacc1 (%22.8) ve altısı aacc2 (%17.2) için pozitifti (Bahrami Chegeni *et al.* 2020). Al-Marzooq vd. (2013) Malezya'da, aacC2 geninin %67,7 ile en yaygın aminoglikozid direnç geni olduğunu ve *K. pneumonia* izolatlarında %2,7 aacC1 tespit edildiğini açıklamıştır.

D sınıfı laktamazlara oksasilinazlar veya oxa-laktamazlar da denir çünkü oksalik asidi benzilpenisilinden daha verimli bir şekilde hidrolize etme kabiliyetine sahiptirler. Bu enzimler ilk olarak 1960'larda ve 1970'lerde keşfedilmiş ve penisilin ve oksasiline karşı hidrolitik aktivite göstermiştir (King *et al.* 2016). Ayrıca sonuçlarda üç izolatın (%13) oxa geni için pozitif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11).

Antimikrobiyal antibiyotik direnç genlerinin moleküler tespitinin sonucu (Şekil 4.7 ve Şekil 4.11), 3 (%13) izolatın bla-oxa geni için pozitif olduğunu ortaya çıkartmıştır. Bu sonuç, bla- oxa geni bulan Sugumar vd. (2014) izolatların %46'sında tespit edilmiş ve benzer olmayan Amirkamali vd. (2017) bla oxa-1 genini (%37,3) elde etmişlerdir.

Antimikrobiyal antibiyotik direnç genlerinin moleküler tespitinin sonucu (Şekil 4.7 ve Şekil 4.12), 10 (%43,7) izolatın ampc geni için pozitif olduğunu ortaya çıkartmıştır. Bu sonuç, *ampc* genini bulan Gupta vd. (2012) ile yakın sonuçlarda olup izolatlarının % 32'sinde tespit edilmiştir.

Antimikrobiyal antibiyotik direnç genlerinin moleküler tespitinin sonucu (Şekil 4.7 ve Şekil 4.13), 0 (%0) izolatta bla veb geni için pozitif olduğunu ortaya çıkardı. Bu sonuç Amirkamali vd. (2017) tarafından bla *veb* geni bulan izolatların %13,3'ünde tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada, en yaygın bakteri pseudomonas spp ve ardından K. pneumoniae idi.
2. Tüm izolatların artan ilaç direnç özelliklerini göstermişlerdir, 23 izolatın tamamı Amoksisilin ve Seftriaksona karşı tam dirençli (%100) ve Amoksisilin + Klavulanik aside (%91,3) yüksek direnç göstermiştir.
3. Levofloksasin (%17,1), Gentamisin (%13) ve Amikasin'e (%4,3) karşı düşük direnç vardır.
4. Imipenem, 23 izolatın tümünün üremesini inhibe eden tek antibiyotiktir.
5. 8 gen arasında bla tem ve bla shv geni yanık enfeksiyonundan K. pneumoniae izolatlarında bulunan en baskın genler iken, toplam 23 izolatta veb ve aacc1 geni taşınmamıştır.

6.1 Öneriler

1- Bakteriyel enfeksiyona karşı en iyi antimikrobiyalleri araştırmak için periyodik olarak antimikrobiyal duyarlılık testi kullanılacaktır.

2- Yeni antimikrobiyal sentezi, tıbbi bitkiler veya kimyasal ham maddelerden çıkartılabilir ve hastanedeki yanıkların tedavisinde kullanılır.

3- Özellikle hastanede çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara karşı daha koruyucu önlemler alınması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Abo-Shama, U. H., El-Gendy, H., Mousa, W. S., Hamouda, R. A., Yousuf, W. E., Hetta, H. F. and Abdeen, E. E. 2020. Synergistic and antagonistic effects of metal nanoparticles in combination with antibiotics against some reference strains of pathogenic microorganisms. Infection and drug resistance, 13: 351.

Ahmed, O. I., El-Hady, S. A., Ahmed, T. M. and Ahmed, I. Z. 2013. Detection of bla SHV and blaCTX-M genes in ESBL producing Klebsiella pneumoniae isolated from Egyptian patients with suspected nosocomial infections. The Egyptian Journal of Medical Human Genetics, 14: 277-283.

Ahuja, R. B., Gupta, A. and Gur, R. 2009. A prospective double-blinded comparative analysis of Framycetin and Silver Sulphadiazine as topical agents for burn: A pilot study Burns, 35: 672-6.

Akbari, R. and Asadpour, L. 2017. Identification of capsular serotypes K1 and K2 in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae in North of Iran. Medical Laboratory Journal, 11: 36-39.

Al Mahrezi, S., Al Shuhoomi, N. Z. and Chitme, H. R. 2014. Prevalence of antibiotic sensitivity and resistance in Klebsiella pneumonia isolates from Omani patients Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research, 3: 24-31.

Al Najim, M. M., Habeeb, S. A. K. and Alabbasy, A. J. 2020. Antimicrobial Activity and Anti-Biofilm Formation on Pseudomonas Aeruginosa Isolated From Tonsillitis. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology, 21: 97-106.

Al Sanjee, S., Haque, A., Banerjee, S., Hoque, M. S., Moniruzzaman, M., Das, K. C. and Karim, M. E. 2020. Phenotypic and genotypic screening of multi-drug resistant ESBL producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae from burn wound infection. International Journal of Biosciences, 2: 145-155.

Al-Aali, K. Y. 2016. Microbial profile of burn wound infections in burn patients, Taif, Saudi Arabia. Arch. Clin. Microbiol., 7: 1-9.

Al-Azawi, I. H. S. 2014. Detection of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) in Klebseilla pneumoniae Isolated from Urinary Tract Infections. AL-Qadisiya Medical Journal, 29: 768-772.

Albasha, A. M., Hassan Osman, E., Abd-Alhalim, S., Alshaib, E. F., Al-Hassan, L. and Altayb, H. N. 2020. Detection of several carbapenems resistant and virulence genes in classical and hyper-virulent strains of Klebsiella pneumoniae isolated from hospitalized neonates and adults in Khartoum. BMC Research Notes, 13: 1-7.

Alemayehu, S., Afera, B., Kidanu, K. and Belete, T. 2020. Management outcome of burn injury and associated factors among hospitalized children at Ayder Referral Hospital. International journal of pediatrics, 1: 2-9.

Ali, T., Ali, I., Khan, N. A., Han, B. and Gao, J. 2018. The growing genetic and functional diversity of extended spectrum beta-lactamases. Bio. Med. research international, 5: 1-14.

Aljanaby, A, A. J. and Alhasani, A. H. A. 2015a. Prevalence of blaTEM and blaSHV genes in multidrug resistant Klebsiella pneumoniae isolated from hospital's patients with burns infections in AL-Najaf governorate – Iraq. World Journal of Pharmaceutical Research, 4: 145-154.

Aljanaby, A. A. J. and Alhasnawi H. M. R. J. 2017b. Phenotypic and Molecular Characterization of Multidrug Resistant Klebsiella pneumoniae Isolated from Different Clinical Sources in Al-Najaf Province-Iraq. Pakistan Journal of Biological Sciences, 20: 217-232.

Allas, Ü. 2017. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of antibiotic resistance.

Allorto, N., Rencken, C. A., Wall, S. and Pompermaier, L. 2021. Factors impacting time to surgery and the effect on in-hospital mortality. Burns, 47: 922-929.

Al-Marzooq, F., Mohd Yusof, M. Y. and Tay, S. T. 2013. Identification of a Novel SHV-β-lactamase Variant (SHV-144) in a Malaysian Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae Isolate. Jpn. J. Infect. Dis., 66: 555–7.

Al-Ouqaili, M. T., Khalaf, E. A. and Al-Kubaisy, S. H. 2020. DNA Sequence Analysis of BlaVEB Gene Encoding Multi-drug Resistant and Extended-spectrum β-lactamases Producer Isolates of and. The Open Microbiology Journal, 14: 40-47.

Al-Yasseen, A. K. 2004. Bacteriological and genetical study to evaluate the relationship between hospital effluent and distribution of multiple antibiotic resistant bacteria. Ph. D Thesis, University of Babylon, 103 page, Iraq.

Al-Zubaidi, S. J. J. and Al-Taai, H. R. R. 2020. Multi Locus Sequence Typing of Multi Drug Resistance Klebsiella Pneumoniae Isolated from different Clinical Samples. International Journal of Psychosocial Rehabilitation, 24: 3107-3115.

Amirkamali, S., Naserpour-Farivar, T., Azarhoosh, K. and Peymani, A. 2017. Distribution of the bla OXA, bla VEB-1, and bla GES-1 genes and resistance patterns of ESBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitals in Tehran and Qazvin, Iran. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 50: 315-320.

Anbazhagan, D., Kathirvalu, G., Mansor, M., Yan, G., Yusof, M. and Sekaran, S. 2010. Multiplex polymerase chain reaction (PCR) assays for the detection of Enterobacteriaceae in clinical samples. African J. Microbiol. Res., 4: 1186-1191.

Anonymous 2017. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 27ed Informational Supplement M100. CLSI, Wayne, PA, USA.

Arshad, M., Rehman, J., Chaudry, Q. U. N., Nadeem, H. M., Akram, Z. and Umair, G. 2021. Frequency and Pattern of Bacterial & Fungal Infections in Neutropenic Patients Undergoing Bone Marrow Transplantation. Journal of Haematology and Stem Cell Research, 1: 16-20.

Ashurst, J. V. and Dawson, A. 2018. Klebsiella pneumonia, Kingman Regional Medical Center, 38: 86.

Awosile, B. B. and Michael, A. 2021. Genetic Environments of Plasmid-Mediated blaCTXM-15 beta-lactamase gene in Enterobacteriaceae from Africa. Microbiology Research, 12: 383-394.

Bahrami Chegeni, F., Goudarzi, G. and Shakib, P. 2020. Frequency of oqxAB Genes in Klebsiella Pneumoniae Isolated from Khorramabad Hospitals. Yafteh, 22: 43-51.

Barguigua, A., El Otmani, F., Talmi, M., Bourjilat, F., Haouzane, F., Zerouali, K. and Timinouni, M. 2011. Characterization of extended-spectrum β-lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from the community in Morocco. J. Med. Microbiol., 60: 1344-1352.

Barry, B. W. and Eini, D. E. 1976. Solubilization of hydrocortisone, dexamethasone, testosterone and progesterone by long-chain polyoxyethylene surfactants. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 28: 210-218.

Bartlett, J. S. and Stirling D. 1998. PCR Protocols: Methods in Molecularand Biology. Humana Press Inc. N. J, 60: 255-527.

Bay, L., Barnes, C. J., Fritz, B. G., Thorsen, J., Restrup, M. E. M., Rasmussen, L. and Bjarnsholt, T. 2020. Universal dermal microbiome in human skin. M. Bio., 11: e02945-19.

Belkum, A., Tassios, P. T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N. K**.**, Fussing, V., Green, J., Feil, E., Gerner-Smidt, P., Brisse, S. and Struelens, M. 2007. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. Clin. Microbiol. Infect., 13: 1-46.

Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E. and Larsson, D. J. 2018. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. FEMS microbiology reviews, 42: 53.

Bergšpica, I., Kaprou, G., Alexa, E. A., Prieto, M. and Alvarez-Ordóñez, A. 2020. Extended Spectrum β-Lactamase (ESBL) Producing Escherichia coli in Pigs and Pork Meat in the European Union. Antibiotics, 9: 678.

Bevan, E. R., Jones, A. M. and Hawkey, P. M. 2017. Global epidemiology of CTX-M β-lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. Journal of antimicrobial chemotherapy, 72: 2145-2155.

Biset, S., Moges, F., Endalamaw, D. and Eshetie, S. 2020. Multi-drug resistant and extended-spectrum β-lactamases producing bacterial uropathogens among pregnant women in Northwest Ethiopia. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 19: 1-9.

Bonnet, R., Sampaio, J. L., Labia, R., De Champs, C., Sirot, D., Chanal, C. and Sirot, J. 2000. A novel CTX-M β-lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. Antimicrob Agents Chemother, 44: 1936-1942.

Bonomo, R. A. 2017. β-Lactamases: a focus on current challenges. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 7: 2-15.

Borges, A., Abreu, A. C., Dias, C., Saavedra, M. J., Borges, F. and Simões, M. 2016. New perspectives on the use of phytochemicals as an emergent strategy to control bacterial infections including biofilms. Molecules, 21: 877.

Breijyeh, Z., Jubeh, B. and Karaman, R. 2020. Resistance of Gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. Molecules, 25: 13-23.

Brisse, S., Passet, V., Haugaard, A. B., Babosan, A., Kassis-Chikhani, N., Struve, C. and Decrée, D. 2013. Wzi Gene sequencing, a rapid method for determination of capsular type for Klebsiella strains. J.Clin. Microbiol, 51: 4073-4078.

Broberg. C. A., Palacios, M. and Miller, V. L. 2014. Klebsiella: a long way to go towards understanding this enigmatic jet setter. F1000Prime Reports, 6: 64.

Brönstrup, M. and Sasse, F. 2020. Natural products targeting the elongation phase of eukaryotic protein biosynthesis. Natural Product Reports, 37: 752-762.

Brzychczy-Wloch, M., Borszewska-Kornacka, M., Gulczynska, E., Wojkowska-Mach, J., Sulik, M., Grzebyk, M., Luchter, M., Heczko, P. B. and Bulanda, M. 2013. Prevalence of antibiotic resistance in multi-drug resistant coagulase-negative staphylococci isolated from invasive infection in very low birth weight neonates in two Polish NICUs. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 12: 1-7.

Bush, K. and Bradford, P. A. 2019. Interplay between β-lactamases and new β-lactamase inhibitors. Nature Reviews Microbiology, 17: 295-306.

Bush, K. and Jacoby, G. A. 2010. Updated functional classification of betalactamases. Antimicrob Agents Chemother, 54: 969-976.

Cabral, L., Afreixo, V., Meireles, R., Vaz, M., Frade, J. G., Chaves, C. and Paiva, J. A. 2019. Evaluation of procalcitonin accuracy for the distinction between Gram-negative and Gram-positive bacterial sepsis in burn patients. Journal of Burn Care and Research, 40: 112-119.

Cantón, R., González-Alba, J. M. and Galán, J. C. 2012. CTX-M enzymes: origin and diffusion. Frontiers in microbiology, 3: 110.

Catalán-Nájera, J. C., Garza-Ramos, U. and Barrios-Camacho, H. 2017. Hypervirulence and hypermucoviscosity: two different but complementary Klebsiella spp. phenotypes?. Virulence, 8: 1111-1123.

Cerdeira, L., Koga, V. L., Tizura, A. T., Fuga, B., Nakazato, G., Kobayashi, R. K. T. and Vespero, E. C. 2020. Genomic insights of high-risk clones of ESBL-producing Escherichia coli isolated from community infections and commercial meat in Southern Brazil. bioRxiv, 12: 1-15

Chavan, M., Rafi, H., Wertz, J., Goldstone, C. and Riley, A. 2005. Phage associated bacteriocins reveal a novel mechanism for bacteriocin diversification in Klebsiella. J. Mol. Evol., 60: 546-556.

Cheng, J., Zhang, G., Li, Q., Xu, H., Yu, Q., Yi, Q. and Luo, Z. 2020. Time to positivity of Klebsiella pneumoniae in blood culture as prognostic indicator for pediatric bloodstream infections. European journal of pediatrics, 179, 1689-1698.

Chiu, C. C., Lin, T. C., Wu, R. X., Yang, Y. S., Hsiao, P. J., Lee, Y., Lin, J. C. and Chang, F. Y. 2016. Etiologies of community-onset urinary tract infections requiring hospitalization and antimicrobial susceptibilities of causative microorganisms. J. Microbiol. Immunol. Infect., 50: 879-885.

Choby, J. E., Howard-Anderson, J. and Weiss, D. S. 2020. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae–clinical and molecular perspectives. Journal of internal medicine, 287: 283-300.

Choi, M., Hegerle, N., Nkeze, J., Sen, S., Jamindar, S., Nasrin, S. and Tennant, S. M. 2020. The diversity of lipopolysaccharide (O) and capsular polysaccharide (K) antigens of invasive Klebsiella pneumoniae in a multi-country collection. Frontiers in Microbiology, 11: 1249.

Christofides, C., Moore, R. and Nel, M. 2020. Baux score as a predictor of mortality at the CHBAH Adult Burns Unit. journal of surgical research, 251: 53-62.

Chung The, H., Karkey, A., Pham Thanh, D., Boinett, C. J., Cain, A. K., Ellington, M. and Baker, S. 2015. A high-resolution genomic analysis of multidrug-resistant hospital outbreaks of Klebsiella pneumoniae. EMBO Mol. Med., 7: 227-239.

Chun-mei, C., Wang, M., Xian-ping, L., Peng-ling, L., Jing-jing, T., Zhang, K. and Luo, C. 2021. Homology analysis between clinically isolated extraintestinal and enteral Klebsiella pneumoniae among neonates. BMC Microbiology, 21: 1-11.

Colín-Castro, C. A., Franco-Cendejas, R., Rocha-González, H. I., Cruz-Arenas, E., Leyva-García, N., Sánchez-Sánchez, R. and Magaña, J. J. 2021. Association of

TLR4 gene polymorphisms with sepsis after a burn injury: findings of the functional role of rs2737190 SNP. Genes Immun., 22: 24-34

Collee, J. G., Miles, R. S. and Watt, B. 1996. Tests for identification of bacteria. Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology, 14: 131-49.

Collignon, P., Powers, J. H., Chiller, T. M., Aidara-Kane, A. and Aarestrup, F.M. 2009. World Health Organization Ranking of Antimicrobials According to Their Importance in Human Medicine: A Critical Step for Developing Risk Management Strategies for the Use of Antimicrobials in Food Production Animals. Clinical Infectious Diseases, 49: 132-141.

Costa, B., Mota, R., Tamagnini, P., Martins, M. C. L. and Costa, F. 2020. Natural cyanobacterial polymer-based coating as a preventive strategy to avoid catheter-associated urinary tract infections. Marine drugs, 18: 2-23.

Da Silva, Y., Ferrari, R., Marin, V. A. and Junior, C. A. C. 2019. A Global Overview of β-lactam Resistance Genes in Klebsiella pneumoniae. The Open Infectious Diseases Journal, 11: 22-34.

Dawoud, T. M., Syed, A., Maurya, A. K., Ahmad, S. S., Rabbani, Q., Alyousef, A. A. and Daglia, M. 2020. Incidence and antimicrobial profile of extended-spectrum β-lactamase producing gram-negative bacterial isolates: An in-vitro and statistical analysis. Journal of Infection and Public Health, 13:1729-1733.

De Angelis, G., Del Giacomo, P., Posteraro, B., Sanguinetti, M. and Tumbarello, M. 2020. Molecular Mechanisms, Epidemiology, and Clinical Importance of β-Lactam Resistance in Enterobacteriaceae. International Journal of Molecular Sciences, 21: 4-24.

Dekaboruah, E., Suryavanshi, M. V., Chettri, D. and Verma, A. K. 2020. Human microbiome: an academic update on human body site specific surveillance and its possible role. Archives of Microbiology, 202: 2147-2167.

Derakhshan, S., Peerayeh, S. N. and Bakhshi B. 2015. Genotyping and characterization of CTX-M-15-producing Klebsiellapneumoniae isolated from an Iranian hospital, J. Chemother, 28: 289-296.

Deshayes, S., Coquerel, A. and Verdon, R. 2017. Neurological adverse effects attributable to β-lactam antibiotics: a literature review. Drug safety, 40: 1171-1198.

Devanga Ragupathi, N. K., Muthuirulandi Sethuvel, D. P., Triplicane Dwarakanathan, H., Murugan, D., Umashankar, Y., Monk, P. N., Karunakaran, E. and Veeraraghavan, B. 2020. The Influence of Biofilms on Carbapenem Susceptibility and Patient Outcome in Device Associated K. pneumoniae Infections: Insights Into Phenotype vs Genome-Wide Analysis and Correlation. Frontiers in Microbiology, 11: 1-16.

Dinatale, A. 2017. Prevalence of plasmid genetic elements among ESBL-producing E. coli isolated from a UK river and the effects of waste water effluent. PhD thesis, University of Lincoln, 66 page, UK.

Ding, Y., Li, Z., Xu, C., Qin, W., Wu, Q., Wang, X. and Huang, W. 2021. Fluorogenic Probes/Inhibitors of β-Lactamase and their Applications in Drug-Resistant Bacteria. Angewandte Chemie International Edition, 60: 24-40.

Drawz, S. M. and Bonomo, R. A. 2010. Three decades of β-lactamase inhibitors. Clin. Microbiol. Rev., 23: 160-201.

Dropa, M., Balsalobre, L. C., Lincopan, N., Matté, G. R. and Matté M. H. 2015. Complex class 1 integrons harboring CTX-M-2-encoding genes in clinical Enterobacteriaceae from a hospital in Brazil. J. Infect. Dev. Ctries., 9: 890-7.

Dubey, D., Raza, F., Sawhney, A. and Pandey, A. 2013. Klebsiella pneumoniae renal abscess syndrome: a rare case with metastatic involvement of lungs, eye, and brain. Case Reports in Infect. Dis., 2: 1-3.

Dziri, O., Dziri, R., Maraoub, A. and Chouchani, C. 2020. Characterization of O25b-ST131 Escherichia coli clone producing CTX-M-15, DHA-4, and CMY-42 in urinary tract infections in a Tunisian island. Microbial. Drug Resistance, 26: 741-746.

Ejaz, H., Younas, S., Abosalif, K. O., Junaid, K., Alzahrani, B., Alsrhani, A. and Hamam, S. S. 2021. Molecular analysis of bla SHV, bla TEM, and bla CTX-M in extended-spectrum β-lactamase producing Enterobacteriaceae recovered from fecal specimens of animals. Plos. one, 16: 1-15.

El Hamzaoui, N., Barguigua, A., Larouz, S. and Maouloua, M. 2020. Epidemiology of burn wound bacterial infections at a Meknes hospital, Morocco. New Microbe and New Infect., 38: 1-6.

El-Mokhtar, M. A., Daef, E., Mohamed Hussein, A. A., Hashem, M. K. and Hassan, H. M. 2021. Emergence of Nosocomial Pneumonia Caused by Colistin-Resistant Escherichia coli in Patients Admitted to Chest Intensive Care Unit. Antibiotics, 10: 2-14.

Eltai, N. O., Al Thani, A. A., Al-Ansari, K., Deshmukh, A. S., Wehedy, E., Al-Hadidi, S. H. and Yassine, H. M. 2018. Molecular characterization of extended spectrum β-lactamases enterobacteriaceae causing lower urinary tract infection among pediatric population. Antimicrobial Resistance and Infection Control., 7: 1-9.

Emami, A., Pirbonyeh, N., Keshavarzi, A., Javanmardi, F., Ghermezi, S. M. and Ghadimi, T. 2020. Three Year Study of Infection Profile and Antimicrobial Resistance Pattern from Burn Patients in Southwest Iran. Infection and drug resistance, 13: 1499-1506.

Ensor, P., Hoadley, U., Jacklin, H., Kuhne, C., Schmitt, E., Lombard, A. and Van den Heuvel-Panhuizen, M. 2009. Specialising pedagogic text and time in Foundation Phase numeracy classrooms. Journal of Education, 47: 5-30.

Etemadi, S., Leylabadlo, H. E. and Ghotaslou, R. 2020. AmpC β-Lactamase among Enterobacteriaceae: A new insight. Gene Reports, 19: 100673.

Ethridge, C. and Smith, L. 2018. Synthesis of Amidopyrroles as Probes of Type 3 Aminoglycoside Kinases,. Murray State Uni., 1: 1-13.

Fang, C. T., Shih, Y. J., Cheong, C. M. and Yi, W. C. 2016. Rapid and accurate determination of lipopolysaccharide O-antigen types in Klebsiella pneumoniae with a novel PCR-based O-genotyping method. Journal of clinical microbiology, 54: 666-675.

Farooq, U., Nasrullah, M. and Bhatti, J. A. 2011. Incidence of burns and factors associated with their hospitalisation in Rawalpindi, Pakistan. Burns, 37: 535-40.

Fernandes, R., Amador, P., Oliveira, C. and Prudˆencio, C. 2014. Molecular characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Northern Portugal. Scientific World Journal, 6: 1-18.

Fernández-Martínez, M., Ruiz del Castillo, B., Lecea-Cuello, M. J., Rodríguez-Baño, J., Pascual, Á., Martínez-Martínez, L. and Spanish Network for the Research in

Infectious Diseases (REIPI) and the Spanish Group for Nosocomial Infections (GEIH). 2018. Prevalence of aminoglycoside-modifying enzymes in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae producing extended spectrum β-lactamases collected in two multicenter studies in Spain. Microbial Drug Resistance, 24: 367-376.

Filgona, J., Banerjee, T. and Anupurba, S. 2015. Role of efflux pumps inhibitor in decreasing antibiotic resistance of Klebsiella pneumoniae in a tertiary hospital in North India. The Journal of Infection in Developing Countries, 9: 815-820.

Forson, O. A., Ayanka, E., Olu-Taiwo, M., Pappoe-Ashong, P. J. and Ayeh-Kumi, P. J. 2017. Bacterial infections in burn wound patients at a tertiary teaching hospital in Accra, Ghana. Ann. Burns Fire Disasters, 30: 116-120.

Fouzia, B. and Damle, A. S. 2015. Prevalence and Characterization of Extended Spectrum Beta- Lactamase Production in Clinical Isolates of Klebsiellapneumonia. J. Med. Microb. Diagn., 4: 182-187.

Gajdács, M. 2020. Carbapenem-Resistant but Cephalosporin-Susceptible Pseudomonas aeruginosa in Urinary Tract Infections: Opportunity for Colistin Sparing. Antibiotics, 9: 153-165.

Garcia-Fulgueiras, V., Magallanes, C., Reyes, V., Cayota, C., Galiana, A., Vieytes, M. and Márquez, C. 2020. In Vivo High Plasticity of Multi-Drug Resistant ST258 Klebsiella pneumoniae. Microbial Drug Resistance, 27: 1126-1130.

Garcia-Vidal, C., Sanjuan, G., Moreno-García, E., Puerta-Alcalde, P., Garcia-Pouton, N., Chumbita, M. and Torres, A. 2021. Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study. Clinical Microbiology and Infection, 27: 83-88.

George, S., Basavarajappa, K. G. and Hanumanthappa, A. R. 2015. Bacteriological study of burns infection. Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences, 4: 14216-14225.

Ghafourian, S., Sekawi, Z., Sadeghifard, N., Mohebi, R., Neela, V. K., Maleki, A., Hematian, A., Rahbar, M., Raftari, M. and Ranjbar, R. 2011. The Prevalence of ESBLs Producing Klebsiellapneumoniae Isolates in Some Major Hospitals, Iran. The Open Microbiology Journal, 5: 91-95.

Ghaima, K. K., Abdulhassan, A. A. and Mahdi, Z. H. 2018. Molecular study of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) genes in Pseudomonas aeruginosa isolate from burns. Biochem Cell Arch, 18: 721-7.

Ghose, C. and Euler, C. W. 2020. Gram-negative bacterial lysins. Antibiotics, 9: 3-13.

Govender, R., Amoah, ID., Kumari, S., Bux, F. and Stenström TA. 2021. Detection of multidrug resistant environmental isolates of acinetobacter and Stenotrophomonas maltophilia: a possible threat for community acquired infections?. J. Environ Sci. Health A Tox Hazard Subst. Environ. Eng., 56: 213-225.

Greenhalgh, D. G. 2019. Management of burns. N. Engl. J. Med., 380: 2349–2359.

Gupta, J. L., Makhija, L. K. and Bajaj, S. P. 2010. "National programme for prevention of burn injuries",Indian J Plast Surg 43, Suppl S, 1: 6-10.

Gupta, V., Kumarasamy, K., Gulati, N., Garg, R., Krishnan, P. and Chander, J. 2012. AmpC β-lactamases in nosocomial isolates of Klebsiella pneumoniae from India. The Indian journal of medical research, 136: 237-241.

Hall, M., Alan, N. and Susan, S. 2009. A foundation for Neonatal Care: a Multi-disciplinary Guide. Radcliffe Publishing, 253 page, United Kingdown.

Hammoudi Halat, D. and Ayoub Moubareck, C. 2020. The current burden of carbapenemases: Review of significant properties and dissemination among gram-negative bacteria. Antibiotics, 9: 2-34.

Hansen, J. K., Voss, J., Ganatra, H., Langner, T., Chalise, P., Stokes, S. and Kovac, A. L. 2019. Sedation and analgesia during pediatric burn dressing change: a survey of American Burn Association centers. Journal of Burn Care & Research, 40: 287-293.

Hasan, T. H. and Al-Harmoosh, R. A. 2020. Mechanisms of Antibiotics Resistance in Bacteria. Sys Rev Pharm, 11: 817-823.

Hashim, T. S. 2018. Isolation and Diagnosis of burn contaminated bacteria and study the effect of fat extract on their growth. Master's thesis, University of Johannesburg, 258 page, South Africa.

Heidary, M., Nasiri, M. J., Dabiri, H. and Tarashi, S. 2018. Prevalence of drug-resistant Klebsiella pneumoniae in Iran: a review article. Iranian journal of public health, 47: 317-326.

Hernando-Amado, S., Coque, T. M., Baquero, F. and Martínez, J. L. 2019. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. Nature Microbiology, 4: 1432-1442.

Herridge, W. P., Shibu, P., O'Shea, J., Brook, T. C. and Hoyles, L. 2020. Bacteriophages of Klebsiella spp., their diversity and potential therapeutic uses. J. M. Microbiol., 69: 176-194.

Hofmann, E., Fink, J., Eberl, A., Prugger, E. M., Kolb, D., Luze, H. and Kotzbeck, P. 2021. A novel human ex vivo skin model to study early local responses to burn injuries. Scientific reports, 11: 1-13.

Hou, Xiang-hua., Song, Xiu-yu., Ma, Xiao-bo., Zhang, Shi-yang. and Zhang, Jia-qin. 2015. Molecular characterization of multidrug-resistant Klebsiellapneumoniae isolates. Brazilian J. Microbiol., 46: 759-768.

Hujer, K. M., Hujer, A. M., Hulten, E. A., Bajaksouzian, S., Adams, J. M., Donskey, C. J. and Bonomo, R. A. 2006. Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant Acinetobacter sp. isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army Medical Center. Antimicrobial agents and chemotherapy, 50: 4114-4123.

Hunter, M. A., Schlichting, L. E., Rogers, M. L., Harrington, D. T. and Vivier, P. M. 2020. Neighborhood risk: Socioeconomic status and hospital admission for pediatric burn patients in Rhode Island. Burns, 47: 1451-1455.

Ibrahim, M. E., Abbas, M., Al-Shahrai, A. M. and Elamin, B. K. 2019. Phenotypic characterization and antibiotic resistance patterns of extended-spectrum β-Lactamase-and AmpC β-lactamase-producing Gram-negative bacteria in a referral hospital, Saudi Arabia. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiol., 26: 3-9.

Islam, F. 2018. Evaluation of MicrocinE492 gene presence in Klebsiella pneumoniae isolated from clinical samples. PhD Thesis, BRAC University, 54 page, Dhaka.

Jauhari, S., Pal, S., Goyal, M., Prakash, R. and Juyal, D. 2020. Bacteriological and Antimicrobial Sensitivity Profile of Burn Wound Infections in a Tertiary Care Hospital of Uttarakhand. Int. J. Cur. Res. Rev., 12: 1-30.

Jawetz, E., Melnick, J. and Adelberg, E. 2010. Review of Medical Microbiology. (25PthP ed.). Appleton and Lange, 823 page, U.S.A.

Jean, S. S., Chang, Y. C., Lin, W. C., Lee, W. S., Hsueh, P. R. and Hsu, C. W. 2020. Epidemiology, treatment, and prevention of nosocomial bacterial pneumonia. J. Clinical Medi., 9: 275.

Jensen, C., Bæk, K. T., Gallay, C., Thalsø-Madsen, I., Xu, L., Jousselin, A. and Frees, D. 2019. The ClpX chaperone controls autolytic splitting of Staphylococcus aureus daughter cells, but is bypassed by β-lactam antibiotics or inhibitors of WTA biosynthesis. PLoS pathogens, 15: 2-27.

Jeschke, M. G., Van Baar, M. E., Choudhry, M. A., Chung, K. K., Gibran, N. S. and Logsetty, S. 2020. Burn injury. Nature Reviews Disease Primers, 6: 1-25.

Jiang, X., Cui, X., Xu, H., Liu, W., Tao, F., Shao, T. and Zheng, B. 2019. Whole genome sequencing of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli isolated from a wastewater treatment plant in China. Frontiers Microbiol., 10: 2-9.

Jin, L., Liu, Y., Jing, C., Wang, R., Wang, Q. and Wang, H. 2020. Neutrophil extracellular traps (NETs)-mediated killing of carbapenem-resistant hypervirulent Klebsiella pneumoniae (CR-hvKP) are impaired in patients with diabetes mellitus. Virulence, 11: 1122-1130.

Kandela, N. J. 2011. Detection of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESβL) and Klebocin Production from Klebsiella pneumoniae Local Isolates from Urinary Tract Infections. Al-Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences (AJPS), 9: 21-42.

Kaspersen, H. 2015. Molecular characterization of extended-spectrum β-lactamase producing Klebsiellapneumoniae from the Stavanger region between 2003 and 2012. Master's Thesis, University of Stavanger, 54 page, Norway.

Khairy, R. M., Mahmoud, M. S., Shady, R. R. and Esmail, M. A. M. 2020. Multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae in hospital-acquired infections: Concomitant analysis of antimicrobial resistant strains. International journal of clinical practice, 74: 22-43.

Khorshidi, A., Rohani, M. and Moniri, R. 2011. The prevalence and molecular characterization of extended-spectrum β-lactamases-producing Klebsiella pneumoniae isolates recovered from Kashan hospital university, Iran Jundishapur J. Microbiol., 4: 289-294.

Kimberly, V. 2015. Resistance to Aminoglycosides in Klebsiellapneumoniae from Environmental Waters. University of California, Irvine, Paramount, CA American Association for the Advancement of Science, 81381–1385.

King, D. T., Sobhanifar, S. and Strynadka, N. C. 2016. One ring to rule them all: Current trends in combating bacterial resistance to the β-lactams. Protein Science, 25: 787-803.

Kirketerp-Møller, K., Stewart, P. S. and Bjarnsholt, T. 2020. The zone model: A conceptual model for understanding the microenvironment of chronic wound infection. Wound Repair and Regeneration, 28: 593-599.

Kothari, A., Kumar, S., Omar, B. J. and Kiran, K. 2020. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production by disc diffusion method among Pseudomonas species from various clinical samples. Journal of family medicine and primary care, 9: 683-693.

Krasauskas, R., Labeikytė, D., Markuckas, A., Povilonis, J., Armalytė, J., Plančiūnienė, R. and Sužiedėlienė, E. 2015. Purification and characterization of a new β-lactamase OXA-205 from Pseudomonas aeruginosa. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 14: 1-8.

Ku, W.-W., Kung, C.-H., Lee, C.-H., Tseng, C.-P., Wu, P.-F., Kuo, S.-C., Chen, T.-L., Lee, Y.-T., Wang, F.-D. and Fung, C.-P. 2015. Evolution of carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: an 18-year longitudinal study from a medical center in northern Taiwan. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 48: 57–64

Kudo, M., Matono, T., Morita, M., Izumiya, H., Ohnishi, M., Hasegawa, J. and Imura, H. 2020. Molecular analysis of virulence factors of hypermucoviscous Klebsiella pneumoniae in a diabetes patient with multifocal intramuscular and musculoskeletal abscesses. Journal of Infection and Chemotherapy, 26: 110-114.

Lam, K. H., Parkin, T. D. H., Riggs, C. M. and Morgan, K. L. 2007. Descriptive analysis of retirement of Thoroughbred racehorses due to tendon injuries at the Hong Kong Jockey Club (1992–2004). Equine veterinary journal, 39: 143-148.

Landecker, H. 2016. Antibiotic resistance and the biology of history. Body and Society, 22: 19-52.

Lari, A. R., Azimi, L., Rahbar, M., Fallah, F. and Alaghehbandan, R. 2013. Phenotypic detection of Klebsiella pneumoniae carbapenemase among burns patients: first report from Iran. Burns, 39: 174-176.

Laskey, A. 2020. Horizontal Transfer of β-Lactam Resistance in the Mouse Gut Microbiota Under Antibiotic Treatment, PhD Thesis, University of Ottawa, 47 page, Canada.

Lawrence, C. C. 2018. Isolation and identification of microorganisms from herbal mixtures sold at enugu metropolis. PhD Thesis , Godfrey Okoye University, 45 page, Nigeria.

Lee, S., Mir, R. A., Park, S. H., Kim, D., Kim, H. Y., Boughton, R. K. and Jeong, K. C. 2020. Prevalence of extended-spectrum β-lactamases in the local farm environment and livestock: challenges to mitigate antimicrobial resistance. Critical reviews in Microbiology, 46: 1-14.

Legese, M. H., Weldearegay, G. M. and Asrat, D. 2017. Extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among Ethiopian children. Infect Drug Resist, 25: 27-34.

Lewies, A., Du Plessis, L. H. and Wentzel, J. F. 2019. Antimicrobial peptides: the Achilles' heel of antibiotic resistance? Probiotics and antimicrobial proteins, 11: 370-381.

Lewis, K. 2020. The science of antibiotic discovery. Cell, 181: 29-45.

Li, B., Yi, Y., Wang, Q., Woo, P. C. Y., Tan, L., Jing, H., Gao, G. F. and Liu, C. H. 2012. Analysis of Drug Resistance Determinants in Klebsiellapneumoniae Isolates from a Tertiary-Care Hospital in Beijing, China. PLoS ONE, 7: 1-12.

Li, R., Cheng, J., Dong, H., Li, L., Liu, W., Zhang, C. and Qin, S. 2020. Emergence of a novel conjugative hybrid virulence multidrug-resistant plasmid in extensively drug-resistant Klebsiella pneumoniae ST15. International journal of antimicrobial agents, 55: 20-66.

Liakopoulos, A., Mevius, D. and Ceccarelli. D. 2016. A Review of SHV Extended-Spectrum β-Lactamases: Neglected Yet Ubiquitous. Front Microbiol. Sep., 7: 8-27.

Lin, H., Wang, Q., Liu, L., Chen, Z., Das, R., Zhao, Y. and Luo, Y. 2020. Colonization of mice with amoxicillin-associated Klebsiella variicola drives inflammation via Th1 induction and Treg inhibition. Frontiers in microbiology, 11: 2-13.

Liu, B., Trout, R. E. L., Chu, G. H., McGarry, D., Jackson, R. W., Hamrick, J. C. and Burns, C. J. 2019. Discovery of taniborbactam (VNRX-5133): a broad-spectrum serine-and metallo-β-lactamase inhibitor for carbapenem-resistant bacterial infections, 2789-2801

López-Jácome, L. E., Chávez-Heres, T., Becerra-Lobato, N., García-Hernández, M. D. L., Vanegas-Rodríguez, E. S., Colin-Castro, C. A. and Franco-Cendejas, R. 2020. Microbiology and infection profile of electric burned patients in a referral burn hospital in Mexico City. Journal of Burn Care and Research, 41: 390-397.

Luangtongkum, T., Jeon, B., Han, J., Plummer, P., Logue, C. M and Zhang, Q. 2009. Antibiotic Resistance in Campylobacter: Emergence, Transmission, and Persistence. Future Microbiology, 4: 189-200.

M Hamdoon, A., Z Al-Gerir, A. and M Al-Habib, H. 2011. Profile of Pseudomonas aeruginosa in burn infection and their antibiogram study. Annals of the College of Medicine journal, 37: 57-65.

Ma, Y. X., Wang, C. Y., Li, Y. Y., Li, J., Wan, Q. Q., Chen, J. H. and Niu, L. N. 2020. Considerations and caveats in combating ESKAPE pathogens against nosocomial infections. Advanced Science, 7: 1-43.

MacFadden, B. J. 2000. Cenozoic mammalian herbivores from the Americas: reconstructing ancient diets and terrestrial communities. Annual Review of Ecology and Systematics, 31: 33-59.

Mafiz, A. I., Perera, L. N., He, Y., Zhang, W., Xiao, S., Hao, W. and Zhang, Y. 2018. Case study on the soil antibiotic resistome in an urban community garden. International journal of antimicrobial agents, 52: 241-250.

Magesh, H., Camatchi, C., Vaidianathan, R. and Sumathi, G. 2011. Identification of qnrA1 qnrB1 and aac(6')-Ib-cr in a multiple drug resistant Klebsiellapneumoniae from Chennia i. J. MED. Microbiol, 29: 262-264.

Mahato, S., Mahato, A., Pokharel, E. and Tamrakar, A. 2019. Detection of extended-spectrum beta-lactamase-producing E. coli and Klebsiella spp. in effluents of different hospitals sewage in Biratnagar, Nepal. BMC research notes, 12: 1-6.

Maina, S. M. 2020. Isolation of Bacteria and Prevalence of Resistant Genes in Isolates from Hospital Waste and Surfaces and its Management in Hospitals in Kenya. PhD Thesis, Jomo Kenyatta University, 149 page, Kenya.

Mariya, S. and Hatkar, S. S. 2015. Antimicrobial susceptibility profile of urinary isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Int J Health Sci Res., 5: 169-172.

Martin, R. M. and Bachman, M. A. 2018. Colonization, infection, and the accessory genome of Klebsiella pneumoniae. Frontiers in cellular and infection microbiology, 8: 4-13.

Mathur, P., Khurana, S., Kumar, S., Gupta, D., Aggrawal, R., Soni, K. D. and Malhotra, R. 2021. Device associated infections at a trauma surgical center of India: Trend over eight years. Indian . Medical Microbiol., 39: 15-18.

Mayhall, C. G. 2004. Hospital epidemiology and infection control (3rd ed) Lippincott Wiliam and Wilkins, p. 495–510, Philadelphia.

Meini, S., Tascini, C., Cei, M., Sozio, E. and Rossolini, G. M. 2019. AmpC β-lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know. Infection., 47: 363-375.

Merijn, L. M., Salverda, J., Arjan, G. M., de Visser and Miriam Barlow. 2010. Natural evolution of TEM-1 b-lactamase: experimental reconstruction and clinical relevance. FEMS Microbiol Rev., 34: 1015-1036.

Miryala, S. K., Anbarasu, A. and Ramaiah, S. 2020. Role of SHV-11, a class a β-lactamase, gene in multidrug resistance among Klebsiella pneumoniae strains and understanding its mechanism by gene network analysis. Microbial Drug Resistance, 26: 900-908.

Mirzaei, B., Babaei, R., Bazgir, Z. N., Goli, H. R., Keshavarzi, S. and Amiri, E. 2021. Prevalence of Enterobacteriaceae spp. and its multidrug-resistant rates in clinical isolates: A two-center cross-sectional study. Molecular Biology Reports, 48: 665-675.

Mobasseri, G., Thong, K. L. and Teh, C. S. J. 2021. Genomic analysis revealing the resistance mechanisms of extended-spectrum β-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolated from pig and humans in Malaysia. International Microbiology, 24: 243-250.

Mogle, B. T., Steele, J. M., Thomas, S. J., Bohan, K. H. and Kufel, W. D. 2018. Clinical review of delafloxacin: a novel anionic fluoroquinolone. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 73: 1439-1451.

Mohamed, A. A. S. 2020b. Multiplex Polymerase Chain Reaction Detection of Klebsiella pneumoniae Virulence Strains Isolated from Selected Drinking Water Sources in Khartoum State. PhD Thesis, Sudan University of Science and Technology, 63 page, Sudan.

Mohamed, S. A. E. 2018a. Prevalence of Multi Drug Resistant Escherichia coli Isolated from Patients with Urinary Tract Infection and Phylogenetic Analysis of CTX-M Gene, East of Gezira Locality, Gezira State, Sudan. Degree of Master, University of Gezira, 45 Page, Khartoum

Mohammadi, R., Ekman, R., Svanstrom, L. and Gooya, M. M. 2005. Unintentional home-related injuries in the Islamic Republic of Iran: findings from the first year of a national programme, Public Health, 119: 919-924.

Mohammed, N. A., Arbab, M. H. and Sahar, M. 2021. Seed. Prevalence Rate of Extended Spectrum β-Lactamase CTXM-1 Gene encoding Klebsiella species using Molecular Technique in Khartoum State (Sudan). African Journal of Medical Sciences, 37: 198-213.

Momtaz, S., Dibaj, M., Abdollahi, A., Amin, G., Bahramsoltani, R., Abdollahi, M. and Abdolghaffari, A. H. 2020. Wound healing activity of the flowers of Lilium candidum L. in burn wound model in rats. Journal of Medicinal Plants, 1: 109-118.

Mondal, A. H., Siddiqui, M. T., Sultan, I. and Haq, Q. M. R. 2019. Prevalence and diversity of bla TEM, bla SHV and bla CTX-M variants among multidrug resistant Klebsiella spp. from an urban riverine environment in India. International journal of environmental health research, 29: 117-129.

Monegro, A. F., Muppidi, V. and Regunath, H. 2020. Hospital acquired infections. StatPearls. 12: 1-23

Montso, K. P., Dlamini, S. B., Kumar, A. and Ateba, C. N. 2019. Antimicrobial resistance factors of extended-spectrum beta-lactamases producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from Cattle Farms and Raw Beef in North-West Province. Bio. Med. research international, 3: 1-13.

Moradigaravand, D., Martin, V., Peacock, S. J. and Parkhill, J. 2017. Evolution and epidemiology of multidrug-resistant Klebsiellapneumoniae in the United Kingdom and Ireland. mBio, 8: 1-138.

Morris, S. and Cerceo, E. 2020. Trends, epidemiology, and management of multi-drug resistant gram-negative bacterial infections in the hospitalized setting. Antibiotics, 9: 2-20.

Mukaya, K. J. S. 2020. Analysis of Antimicrobial Resistance Patterns, Genetic Basis of Resistance and Phylogenetic Relatedness in clinical Pseudomonas aeruginosa isolates from in-patients at Kenyatta National Hospital. PhD thesis, Jomo Kenyatta Universıty Of Agriculture And Technology, 70 page, Kenya.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S. and Pfaller, M. A. 2020. Medical Microbiology E-Book. Elsevier Health Sciences, 66: 70-150.

Nachimuthu, R., Kannan, V. R., Bozdogan, B., Krishnakumar, V. and Manohar, P. 2020. CTX-M-type ESBL-mediated resistance to third-generation cephalosporins and conjugative transfer of resistance in Gram-negative bacteria isolated from hospitals in Tamil Nadu, India. Microbiol., 3: 1-7.

Namikawa, H., Oinuma, K. I., Sakiyama, A., Tsubouchi, T., Tahara, Y. O., Yamada, K. and Kakeya, H. 2019. Discovery of anti-mucoviscous activity of rifampicin and its potential as a candidate antivirulence agent against hypervirulent Klebsiella pneumoniae. International journal of antimicrobial agents, 54: 167-175.

Nasser, M., Palwe, S., Bhargava, R. N., Feuilloley, M. G. and Kharat, A. S. 2020. Retrospective Analysis on Antimicrobial Resistance Trends and Prevalence of β-lactamases in Escherichia coli and ESKAPE Pathogens Isolated from Arabian Patients during 2000–2020. Microorganisms, 8: 1626.

Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K. and Carattoli, A. 2017. Klebsiella pneumoniae: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. FEMS microbiology reviews, 41: 252-275.

Neog, N., Phukan, U., Puzari, M., Sharma, M. and Chetia, P. 2021. Klebsiella oxytoca and Emerging Nosocomial Infections. Current Microbiology, 78:1115-1123.

Neuville, M., El-Helali, N., Magalhaes, E., Radjou, A., Smonig, R., Soubirou, J. F. and Mourvillier, B. 2017. Systematic overdosing of oxa-and cloxacillin in severe infections treated in ICU: risk factors and side effects. Annals of intensive care, 7: 1-9.

Newell, C. F., Edwards, F. J. and Winograd, S. M. 2020. A Review of Thermal Burns for Emergency Clinicians. Emergency Medicine Reports, 41: 35-48.

Newire, E. A., Ahmed, S. F., House, B., Valiente, E. and Pimentel, G. 2013. Detection of new SHV-12, SHV-5 and SHV-2a variants of extended spectrum beta-lactamase in Klebsiella pneumoniae in Egypt. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 12: 1-12.

Nguyen, L. P., Pinto, N. A., Vu, T. N., Lee, H., Cho, Y. L., Byun, J. H. and Yong, D. 2020. In Vitro Activity of a Novel Siderophore-Cephalosporin, GT-1 and Serine-Type β-Lactamase Inhibitor, GT-055, against Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae and Acinetobacter spp. Panel Strains. Antibiotics, 9: 267.

Nima, M. and Al-Ramahi, S. K. 2020. Isolation and identification Klebsiella pneumoniae bacteria from different clinical sources of human in Al-Diwaniyah city. Al-Qadisiyah Journal Of Pure Science, 25: 1-6.

Omar, C. M. Z. C. and Anas, T. 2014. E-commerce in Malaysia: Development, implementation and challenges. International Review of Management and Business Research, 3: 291-298.

Op't Veld, R. C., Walboomers, X. F., Jansen, J. A. and Wagener, F. A. 2020. Design Considerations for Hydrogel Wound Dressings: Strategic and Molecular Advances. Tissue Engineering Part B: Reviews, 26: 230-248.

Oraibi, H. M. and Al-Azawi, A. 2021. The prevalence of K. pneumoniae in humans and domsticated animals in Diyala Province. Diyala Journal for Veterinary Sciences, 1: 1-14.

Padmini, N., Ajilda, A. A. K., Sivakumar, N. and Selvakumar, G. 2017. Extended spectrum β-lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae:

critical tools for antibiotic resistance pattern. Journal of basic microbiology, 57: 460-470.

Palacios, A. R., Rossi, M. A., Mahler, G. S. and Vila, A. J. 2020. Metallo-β-lactamase inhibitors inspired on snapshots from the catalytic mechanism. Biomolecules, 10: 2-34.

Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N. and Jensen, S. O. 2018. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. Clinical microbiology reviews, 31 : 25-46.

Paterson, D. L. and Bonomo, R. A. 2005. Extended-spectrum beta lactamases: a clinical update. Clin. Microbiol. Rev., 18: 657–686.

Pinsky, B., Baron, E., Janda, J. and Banaei, N. 2009. Bartholdi's abscess caused by hypermucoviscous Klebsiella pneumoniae. J. Med. Microbiol., 58: 671-673.

Pishtiwan, A. H. and Khadija, K. M. 2019. Prevalence of blaTEM, blaSHV, and blaCTX-M genes among ESBL-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli isolated from thalassemia patients in Erbil, Iraq. Mediterranean journal of hematology and infectious diseases, 11: 1-15

Pitout, J. D. and Laupland K. B. 2008. Extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging publichealth concern. The Lancet Infectious Diseases, 8: 159-166.

Pitton, J. S. 1972. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. Ergeb Physiol, 65: 15-93.

Poirel, L., Potron, A. and Nordmann, P. 2012. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 67: 1597-1606.

Polychronopoulou, E., Raji, M. A., Wolf, S. E. and Kuo, Y. F. 2021. US national trends in prescription opioid use after burn injury, 2007 to 2017. Surgery, 170: 952-961

Preetthi, A. R. 2015. Detection of Antibiotic Resistance and Metallobetalactamase among Pseudomonas Aeruginosa Clinical Isolates. PhD Thesis, Coimbatore Medical Collegel, 108 page, Coimbatore.

Priyanka, A., Akshatha, K., Deekshit, V. K., Prarthana, J. and Akhila, D. S. 2020. Klebsiella pneumoniae infections and antimicrobial drug resistance. In Model

Organisms for Microbial Pathogenesis, Biofilm Formation and Antimicrobial Drug Discovery pp. Springer, pp. 195-225, Singapore.

Profeta, R., Seyffert, N., Tiwari, S., Viana, M. V., Jaiswal, A. K., Caetano, A. C. and Castro, T. L. 2021. Comparative genomics with a multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae isolate reveals the panorama of unexplored diversity in Northeast Brazil. Gene, 772: 2-10.

Raei, F., Eftekhar, F. and Feizabadi, M. M. 2014. Prevalence of Quinolone Resistance among Extended-Spectrum β -Lactamase Producing Uropathogenic Klebsiellapneumoniae. Jundishapur J. Microbiol., 7: 1-5.

Ramirez, M., Xie, G., Marshall, S., Hujer, K., Chain, P., Bonomo, R. and Tolmasky, M. 2012. Multidrug-resistant (MDR) Klebsiella pneumoniae clinical isolates: a zone of high heterogeneity (HHZ) as a tool for epidemiological studies. Clin. Microbiol. Infect., 18: 254-258.

Rampure, R., Gangane, R., Oli, A. K. and Kelmani C. R. 2013. Prevalence of MDR-ESBL producing Klebsiellapneumoniae isolated from clinical samples J. Microbiol. Biotech, 3: 32-39.

Ranjbar, R. and Farahani, A. 2019. Study of genetic diversity, biofilm formation, and detection of Carbapenemase, MBL, ESBL, and tetracycline resistance genes in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolated from burn wound infections in Iran. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 8: 1-11.

Ranjbar, R., Memariani, H., Sorouri, R. and Memariani, M. 2016. Distribution of virulence genes and genotyping of CTX-M-15-producing Klebsiellapneumoniae isolated from patients with community-acquired urinary tract infection (CA-UTI). Microbial Pathogenesis, 100: 244-249.

Rao, M. R., Chennamchetty, V. K., Mathai, D., Verma, M. K., Leon, T. C., Igman, P. and Khan, A. A. 2020. The portrayal of microbes in respiratory medicine. Mustansiriya Medical Journal, 19: 66-72.

Rawat, D. and Nair, D. 2010. Extended-spectrum β-Lactamases in Gram-Negative Bacteria. Journal of Global Infectious Disease, 2: 263-274.

Riwu, K H. P., Effendi, M. H. and Rantam, F. A. 2020. A review of extended spectrum β-lactamase (ESBL) producing Klebsiella pneumoniae and multidrug resistant (MDR) on companion animals. Syst. Rev. Pharm., 11: 270-277.

Rodriguez, C., Ibáñez, R., Rollins-Smith, L. A., Gutiérrez, M. and Durant-Archibold, A. A. 2020. Antimicrobial Secretions of Toads (Anura, Bufonidae): Bioactive Extracts and Isolated Compounds against Human Pathogens, 9: 2-12.

Rostkowska, O. M., Kuthan, R., Burban, A., Salińska, J., Ciebiera, M., Młynarczyk, G. and Durlik, M. 2020. Analysis of Susceptibility to Selected Antibiotics in Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium Causing Urinary Tract Infections in Kidney Transplant Recipients over 8 Years: Single-Center Study, 9: 1-17.

Ryder, C. 2020. Discovering the Interwoven Health Inequities in Aboriginal and Torres Strait Islander Children with an Acute Burns Injury. PhD Thesis, University of New South Wales, 246 page, sydney.

Sa'id, A. S., Mukhkar, M. D., Bukar, A. and Yusha'u, M. 2020. Extended Spectrum Beta-Lactamase production, Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in Clinical Isolates of Klebsiella pneumoniae. Nigerian Journal of Microbiology, 11: 12-13.

Sahoo, B. M. and Banik, B. K. 2020. Therapeutic Potentials of β-Lactam: A Scaffold for New Drug Development. Synthetic Approaches to Nonaromatic Nitrogen Heterocycles, 1: 59-88.

Sathiya, M. 2018. Detection of multidrug resistance in klebsiella species by phenotypic and genotypic methods in a tertiary care hospital, PhD thesis, Madras Medical College, 156 page, Chennai.

Sathyavathy, K. and Madhusudhan, B. K. 2020. Review on Clinical Diseases Caused by Klebsiella. Journal of Pharmaceutical Research International, 2: 12-19.

Sati, G. C., Sarpe, V. A., Furukawa, T., Mondal, S., Mantovani, M., Hobbie, S. N. and Crich, D. 2019. Modification at the 2′-Position of the 4, 5-Series of 2-Deoxystreptamine Aminoglycoside Antibiotics To Resist Aminoglycoside Modifying Enzymes and Increase Ribosomal Target Selectivity. ACS infectious diseases, 5: 1718-1730.

Satlin, M. J., Lewis, J. S., Weinstein, M. P., Patel, J., Humphries, R. M., Kahlmeter, G. and Turnidge, J. 2020. Clinical and Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Position

Statements on Polymyxin B and Colistin Clinical Breakpoints. Clinical Infectious Diseases, 71: 523-529.

Savetamal, A. 2021. Infection in Elderly Burn Patients: What Do We Know? Surgical infections, 22: 65-68.

Sawa, T., Kooguchi, K. and Moriyama, K. 2020. Molecular diversity of extended-spectrum β-lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. Journal of intensive care, 8: 2-13.

Schneider, K. D., Bethel, C. R., Distler, A. M., Hujer, A. M., Bonomo, R. A. and Leonard, D. A. 2009. Mutation of the active site carboxy-lysine (K70) of OXA-1 β-lactamase results in a deacylation-deficient enzyme. Biochemistry, 48: 6136-6145.

Sękowska, A., Chudy, M. and Gospodarek-Komkowska, E. 2020. Emergence of colistin-resistant Klebsiella pneumoniae in Poland. Acta microbiologica et immunologica Hungarica, 67: 18-22.

Shahid, M., Singh, A., Sobia, F., Rashid, M., Malik, A. Shukla, I. and Khan, H. M. 2011. blaCTX-M, blaTEM, and blaSHV in Enterobacteriaceae from North-Indian tertiary hospital: high occurrence of combination genes. Asian Pac. J. Trop. Med., 4: 101-5.

Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D. and Kamal, M. A. 2015. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. Saudi journal of biological sciences, 22: 90-101.

Sharahi, J. Y., Ahovan, Z. A., Maleki, D. T., Rad, Z. R., Rad, Z. R., Goudarzi, M. and Hashemi, A. 2020. In vitro antibacterial activity of curcumin-meropenem combination against extensively drug-resistant (XDR) bacteria isolated from burn wound infections. Avicenna journal of phytomedicine, 10: 3-18.

Shinu, P., Bareja, R., Nair, A. B., Mishra, V., Hussain, S., Venugopala, K. N. and Rasool, S. T. 2020. Monitoring of Non-β-Lactam Antibiotic Resistance-Associated Genes in ESBL Producing Enterobacterales Isolates. Antibiotics, 9: 4-16.

Siddaya, R., Puttamaligaiah, S. B., Rudresh, H. B., Bhoompuram, N. G. And Muninarayanaswamy, V. 2020. An Epidemiologic Study of Patients Presenting

with Burns and Scald Injuries to a Government Medical College Hospital in Karnataka. International Journal of Medicine and Public Health, 10: 54-57.

Sikarwar, A. S. and Batra, H. V. 2011. Challenge to healthcare: Multidrug resistance in KlebsiellaPneumoniae. International Conference on Food Engineering and Biotechnology, 9: 130-134.

Silva, C. R., Okuno, N. T., De Medeiros Macedo, V. H. L., Da Rocha Freire, I., Miller, R. M. and Marin, V. A. 2020. Resistome in gram-negative bacteria from soft cheese in Brazil. Revista de Ciências Médicas e Biológicas., 19: 430-440.

Singh, N. P., Rani, M., Gupta, K., Sagar, T. and Kaur, I. R. 2017. Changing trends in antimicrobial susceptibility pattern of bacterial isolates in a burn unit. Burns, 43: 1083-1087.

Sirot, D., Sirot, J., Labia, R., Morand, A., Courvalin, P., Darfeuille-Michaud, A., Perroux, R. and Cluzel, R. 1987. Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of Klebsiellapneumoniae: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. J Antimicrob Chemother, 20: 323-334.

Slater, C. L., Winogrodzki, J., Fraile-Ribot, P. A., Oliver, A., Khajehpour, M. and Mark, B. L. 2020. Adding insult to injury: mechanistic basis for how AmpC mutations allow Pseudomonas aeruginosa to accelerate cephalosporin hydrolysis and evade avibactam. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 64: 5-17.

Smith, J. R., Rybak, J. M. and Claeys, K. C. 2020. Imipenem-Cilastatin-Relebactam: A Novel β-Lactam–β-Lactamase Inhibitor Combination for the Treatment of Multidrug-Resistant Gram-Negative Infections. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, 40: 343-356.

Smolle, C. 2017. Recent trends in burn epidemiology worldwide: a systematic review, 43: 249-257.

Sofiana, E. D., Pratama, J. W. A., Effendi, M. H., Plumeriastuti, H., Wibisono, F. M., Hartadi, E. B. and Hidayatullah, A. R. 2020. A Review of the Presence of Antibiotic Resistance Problems on Klebsiella Pneumoniae Acquired from Pigs: Public Health Importance. Sys Rev Pharm, 11: 535, 543.

Soltani, E., Hasani, A., Rezaee, M. A., Pirzadeh, T., Oskouee, M. A., Hasani, A. and Binesh, E. 2020. Virulence characterization of Klebsiella pneumoniae and its

relation with ESBL and AmpC beta-lactamase associated resistance. Iranian Journal of Microbiology, 12: 98-106.

Soucy, S. M., Huang, J. and Gogarten, J. P. 2015. Horizontal gene transfer: building the web of life. Nature Reviews Genetics, 16: 472-482.

Spronk, I., Edgar, D. W., Van Baar M. E., Wood, F. M., Van Loey, N. E., Middelkoop, E. and Haagsma, J. A. 2020. Improved and standardized method for assessing years lived with disability after burns and its application to estimate the non-fatal burden of disease of burn injuries in Australia, New Zealand and the Netherlands. BMC public health, 20: 121-129.

Sugumar, M., Kumar, K. M., Manoharan, A., Anbarasu, A. and Ramaiah, S. 2014. Detection of OXA-1 β-lactamase gene of Klebsiella pneumoniae from blood stream infections (BSI) by conventional PCR and in-silico analysis to understand the mechanism of OXA mediated resistance. PLoS One, 9: 2-8.

Sulaiman, A. I. and Salih, M. M. 2020. The antibacterial effect of Frankincense and apple vinegar against Klebsiella spp. isolated from UTI patients. EurAsian Journal of BioSciences, 14: 6421-6427.

Sun, R., Zhang, H., Xu, Y., Zhu, H., Yu, X. and Xu, J. 2021. Klebsiella pneumoniae-related invasive liver abscess syndrome complicated by purulent meningitis: a review of the literature and description of three cases. BMC Infectious Diseases, 21: 1-6.

Tamma, P. D., Aitken, S. L., Bonomo, R. A., Mathers, A. J., Van Duin, D. and Clancy, C. J. 2020. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of Extended-Spectrum β-lactamase Producing Enterobacterales (ESBL-E), Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE), and Pseudomonas aeruginosa with Difficult-to-Treat Resistance (DTR-P. aeruginosa). Clinical Infectious Diseases, 72: 169-183.

Tang, Y., Shen, P., Liang, W., Jin, J. and Jiang, X. 2017. A putative multi-replicon plasmid co-harboring beta-lactamase genes blaKPC-2, blaCTX-M-14 and blaTEM-1 and trimethoprim resistance gene dfrA25 from a Klebsiellapneumoniae sequence type (ST) 11 strain in China. PLoS One, 12: 2-9.

Tapia, K. C. 2018. The efficacy of last-line and experimental antimicrobials against Stenotrophomonas maltophilia and the characterisation of resistant mutant. PhD Thesis, University of Bristol, 220 page, Uk.

Tawfick, M. M., Rady, H. F., El-Borhamy, M. I. and Maraqa, A. D. 2020. Dissemination of Plasmid-Mediated Aminoglycoside-Modifying Enzymes Among MDR Isolates from a Tertiary Care Egyptian Hospital. The Open Microbiology Journal, 1: 14-23.

Tenover, F. C., Gay, E. A., Frye, S., Eells, S. J., Healy, M. and McGowan, J. E. 2009. Comparison of typing results obtained for methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates with the DiversiLab system and pulse-field gel electrophoresis. J. Clin. Microbiol., 47: 2452-2457.

Thenmozhi, S., Moorthy, K., Sureshkumar, B. T. and Suresh, M. 2014. Antibiotic resistance mechanism of ESBL producing Enterobacteriaceae in clinical field: a review. Int. J. Pure Appl. Biosci., 2: 207-26.

Touat, M., Brun-Buisson, C., Opatowski, M., Salomon, J., Guillemot, D., Tuppin, P. and Watier, L. 2021. Costs and Outcomes of 1-year post-discharge care trajectories of patients admitted with infection due to antibiotic-resistant bacteria. Journal of Infection, 82: 339-345.

Tuwaij, N. S. S., Aziz, Z. S. and Al-ghazaly, N. F. 2020. Investigation of genes associated with producing beta-lactamase among Burkholderia cepacia isolates. EurAsian Journal of BioSciences, 14: 1919-1924.

Van Rossum, T., Ferretti, P., Maistrenko, O. M. and Bork, P. 2020. Diversity within species: interpreting strains in microbiomes. Nature Reviews Microbiology, 18: 491-506.

Vital, S. 2013. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. MMWR Morb Mortal Wkly Rep., 62: 165-170.

Wang, L.,Gu, H. and Lu, X. 2012. A rapid low-cost real-time pcr for the detection of Klebsiella pneumoniae carbapenemase genes. Annals of Clin. Microbiol. and Antimicrob, 11: 1-6.

Wang, P., Hu, F., Xiong, Z., Ye, X., Zhu, D., Wang, Y. F. and Wang, M. 2011. Susceptibility of extended-spectrum-β-lactamase-producing Enterobacteriaceae

according to the new CLSI breakpoints. Journal of clinical microbiology, 49: 3127-3131.

Wilson, D. N. 2014. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. Nat Rev Microbiol, 12: 35-48.

Wyres, K. L., Lam, M. M. and Holt, K. E. 2020. Population genomics of Klebsiella pneumoniae. Nature Reviews Microbiology, 18: 344-359.

Yarima, A., Haroun, A. A., Bulus, T. and Manga, M. M. 2020. Occurrence of Extended Spectrum Beta Lactamase Encoding Genes among Urinary Pathogenic Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolates Obtained from a Tertiary Hospital in Gombe Nigeria. Journal of Biosciences and Medicines, 8: 2-14.

Yezli, S., Shibl, A. M. and Memish, Z. A. 2015. The molecular basis of b-lactamase production in Gram-negative bacteria from Saudi Arabia. J. Med. Microbiol, 64: 127-136.

Zaniani, F. R., Meshkat, Z., Nasab, M. N., Khaje- Karamadini, M., Ghazvini, K., Rezaee, A., Esmaily, H., Nabavinia, M. S. and Hoseini, M. D. 2012. The Prevalence of TEM and SHV Genes among Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing EscherichiaColi and KlebsiellaPneumoniae. Iran J. Basic Med. Sci., 15: 654-660.

Zárate, S. G., De la Cruz Claure, M. L., Benito-Arenas, R., Revuelta, J., Santana, A. G. and Bastida, A. 2018. Overcoming aminoglycoside enzymatic resistance: design of novel antibiotics and inhibitors, 23: 284.

Zhang, C. Z., Ding, X. M., Lin, X. L., Sun, R. Y., Lu, Y. W., Cai, R. M. and Jiang, H. X. 2019a. The emergence of chromosomally located blaCTX-M-55 in Salmonella from foodborne animals in China. Frontiers in microbiology, 10: 2-7.

Zhang, Z. Y., Qin, R., Lu, Y. H., Shen, J., Zhang, S. Y., Wang, C. Y. and He, P. 2020b. Capsular polysaccharide and lipopolysaccharide O type analysis of Klebsiella pneumoniae isolates by genotype in China. Epidemiology and Infection, 148: 191-202.

Zhang, Z., Guo, X. and Zhang, Q. 2009. Prevalence characterization of extended spectrum beta-lactamases among Escherichiacoli isolates collected in Zhengzhou. J. Clin. Lab. Anal., 23: 404-407.

Zheng, Y., Yue, C., Zhang, H., Chen, H., Liu, Y. and Li, J. 2021. Deoxycholic Acid and Lithocholic Acid Alleviate Liver Injury and Inflammation in Mice with Klebsiella pneumoniae-Induced Liver Abscess and Bacteremia. Journal of Inflammation Research, 14: 777-789.

Zhou, H., Shi, L., Ren, Y., Tan, X., Liu, W. and Liu, Z. 2020. Applications of Human Skin Microbiota in the Cutaneous Disorders for Ecology-Based Therapy. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 10: 1-9.

Zowawi, H. M., Sartor, A. L., Balkhy, H. H., Walsh, T. R., Al Johani, S. M., AlJindan, R. Y., Alfaresi, M., Ibrahim, E., Al-Jardani, A., Al-Abri, S., Al Salman, J., Dashti, A. A., Kutbi, A. H., Schlebusch, S., Sidjaba, H. E. and Patersona, D. L. 2014. Molecular characterization of carbapenemase-producing Escherichiacoli and Klebsiellapneumoniae in the countries of the gulf cooperation council: dominance of OXA-48 and NDM Producers. Antimicrob. Agents Chemother., 58: 3085–3090.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Mohsin Razzaq AZEEZ

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölüm	2019 - Halen
Lisans	Kufa Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Biyoloji Bölüm	2009 - 2013