

**ETLERDEN İZOLE EDİEN *KLEBSIELLA* TÜRLERİNDE
SİDEROFOR OLUŞUMU, SERUM DİRENCİ, HEMOLİTİK
AKTİVİTE VE GENİŞLETİLMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ
ÜRETİMİNİN BELİRLENMESİ**

Emel YALÇIN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞUBAT 2010
ANKARA**

**ETLERDEN İZOLE EDİEN *KLEBSIELLA* TÜRLERİNDE
SİDEROFOR OLUŞUMU, SERUM DİRENCİ, HEMOLİTİK
AKTİVİTE VE GENİŞLETİLMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ
ÜRETİMİNİN BELİRLENMESİ**

Emel YALÇIN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞUBAT 2010
ANKARA**

Emel YALÇIN tarafından hazırlanan ETLERDEN İZOLE EDİEN *KLEBSIELLA* TURLERİNDE SİDEROFOR OLUŞUMU, SERUM DİRENCİ, HEMOLİTİK AKTİVİTE VE GENİŞLETİLMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ÜRETİMİNİN BELİRLENMESİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı, G. Ü.

Bu çalışma jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR

Biyoloji Anabilim Dalı, H. Ü.

Doç. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN

Biyoloji Anabilim Dalı, G. Ü.

Doç. Dr. Sumru ÇITAK

Biyoloji Anabilim Dalı, G. Ü.

Tarih : / /2010

Bu tez ile Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Bilal TOKLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Emel YALÇIN

**ETLERDEN İZOLE EDİLEN *KLEBSIELLA* TÜRLERİNDE SİDEROFOR
ÜRETİMİ, SERUM DİRENCİ, HEMOLİTİK AKTİVİTE VE
GENİŞLETİLMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ (GSBL)
ÜRETİMİNİN BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Emel YALÇIN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Şubat 2010

ÖZET

Bu araştırmanın amacı, Ankara’da tüketime sunulan kırmızı et ve tavuk etlerinden izole edilen *Klebsiella* türlerinde siderofor oluşumu, serum direnci, hemolitik aktivite ve genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz üretiminin belirlenmesidir. Araştırmamızda Temmuz 2007–Kasım 2008 tarihleri arasında Ankara’daki çeşitli market ve kasaplardan temin edilen 30 adet et (dana kuşbaşı ve kıyma) ve 30 adet tavuk (but ve göğüs) olmak üzere 60 adet örnek ile çalışılmıştır. Örneklerden *Klebsiella*’ların izolasyonu amaçlanmış, isolatlar biyokimyasal testleri yapılarak tür düzeyinde tanımlanmıştır. Tanımlanan türler virülans faktörlerden siderofor üretimi, serum direnci ve hemolitik aktivite bakımından incelenmiş, ayrıca geniş spektrumlu beta laktamaz enzimi üretmeleri ve antibiyotik dirençlilikleri araştırılmıştır. Elde edilen 45 *Klebsiella* izolatinın tür tanımlanması yapılmış olup bunların 21’i (%46.7) *Klebsiella pneumoniae* , 24’ü (%53.3) ise *Klebsiella oxytoca* olarak tanımlanmıştır. Siderofor üretimi Chrome Azurol Sulphate Agar’da araştırılmış ve isolatların 20’sinde (%44) siderofor üretimi tespit edilmiştir. İzolatların serum direnci 56° C’de inaktive edilmiş insan serumu kullanılarak araştırılmış ve isolatların 17’sinde (%38) serum direnci belirlenmiştir. Hemolitik aktivitenin belirlenmesinde kanlı agar kullanılmış olup 30’unun (%67) hemolitik aktiviteye

sahip olduğu tespit edilmiştir. Geniş spektrumlu beta laktamaz üretimleri çift disk sinerji testi ile araştırılmış ve 13'ünde (%29) geniş spektrumlu beta laktamaz üretimi tespit edilmiştir. İzole edilen türlerin meropenem ve imipeneme %100 duyarlı olduğu saptanmış olup, türlerin tamamı ampisilin ve amoksisiline dirençli olarak bulunmuştur.

Bilim Kodu : 203.1.010

Anahtar Kelimeler : Et, *Klebsiella* , siderofor, serum direnci, hemolitik aktivite, geniş spektrumlu beta laktamaz(GSBL), antibiyotik direnci

Sayfa Adeti : 81

Tez Yöneticisi : Doç.Dr.Neslihan GÜNDOĞAN

**DETERMINATION OF SIDEROPHORE PRODUCTION, SERUM
RESISTANCE, HEMOLYTIC ACTIVITY AND EXTENDED SPECTRUM
BETA-LACTAMASE PRODUCING (ESBL) *KLEBSIELLA* SPECIES
ISOLATED FROM MEAT**

(M. Sc. Thesis)

Emel YALÇIN

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
February 2010**

ABSTRACT

The aim of this study is determination of serum resistance, production of siderophore, hemolytic activity and the production of extended spectrum beta lactamases (ESBL) in *Klebsiella* species isolated from meat and chicken offered for consumption in Ankara. In this study 60 meat samples which consist of 30 samples of calf meat (mince and small chunks) and 30 samples of chicken parts (breasts and drumsticks) obtained from different markets and butchers in Ankara , were analyzed between July 2007 and November 2008. Isolation of *Klebsiella* species were purposed and the isolates were identified by biochemical tests as species. Identified species were analyzed in terms of virulence factors such as siderophore production, serum resistance and haemolytic activity. Furthermore, the production of extended spectrum beta lactamase and antibiotic resistance were analyzed. Among 45 *Klebsiella* isolates were identified as *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* in 21 (47.4 %) and 24 (53,3 %) isolates respectively. Siderophore production of 45 isolates were studied with Chrome Azurol Sulphate Agar and it was determined that 20 (44 %) isolates were siderophore producers. Serum resistance of isolates were determined using human serum which inactivated at 56°C and it was found that 17 (38 %) isolates were resistant to the human serum. Blood agar base was used for the

determination of hemolytic activity and 30 (67 %) isolates were determined as haemolysin producers. Production of extended spectrum beta-laktamase (ESBL) of isolates were studied by double disc diffusion method and 13 (29 %) of them were found as producers of ESBL. All 45 *Klebsiella* isolates were found as susceptible to meropenem and imipenem, besides that all isolates were found as resistant to ampicilin and amoxicillin.

Science Code : 203.1.010

Key Words : Meat, Klebsiella, siderophore, serum resistance, hemolytic activity, extended spectrum beta lactamase(ESBL), antibiotic resistance

Page Number : 81

Adviser : Doc.Dr.Neslihan GÜNDOĞAN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardımlarından dolayı sayın hocam Doç.Dr.Neslihan GÜNDÖĞAN'a , kıymetli tecrübelerinden faydalandığım sayın hocam Dr.Ebru YILMAZ'a , en büyük destekçilerimden canım eşim Ahmet YALÇIN'a , biricik kızım Elif Deniz YALÇIN'a çok değerli aileme ve laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Etin Bileşimi.....	3
2.2. Ette Bulunan Mikroorganizmalar.....	3
2.3. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Genel Özellikleri.....	4
2.3.1. <i>Klebsiella</i> ’ların virulans faktörleri.....	9
2.3.2. <i>Klebsiella</i> ’ların hemolitik aktivitesi.....	15
2.3.3. <i>Klebsiella</i> ’da antibiyotik direnci ve geniş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üretimi.....	16
3. MATERYAL VE METOD.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Örneklerin alınması.....	18
3.2. Metod.....	18
3.3. Örneklerin Besiyerine İnokülasyonu.....	19
3.3.1. Eosin Metilen Blue Lactose Sucrose Agar (EMB) (MERCK).....	19

Sayfa

3.4. <i>Klebsiella</i> Türlerinin İzolasyonu.....	19
3.5. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Tanımlanması.....	20
3.5.1. İndol testi.....	20
3.5.2. Metil-Red testi (MR).....	21
3.5.3. Voges-Proskauer testi (VP).....	22
3.5.4. Sitrat testi.....	23
3.5.5. Laktoz testi.....	23
3.5.6. Üreaz testi.....	24
3.6. İzole Edilen <i>Klebsiella</i> Türlerinin Stoklanması.....	25
3.6.1. Triptoz Soy Agar (TSA) (Merck).....	25
3.7. <i>Klebsiella</i> İzolatlarının Virülans Faktörlerinin Belirlenmesi.....	26
3.7.1. <i>Klebsiella</i> türlerinin hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi.....	26
3.7.2. <i>Klebsiella</i> türlerinde siderofor tayini.....	27
3.7.3. <i>Klebsiella</i> türlerinin serum dirençliliklerinin belirlenmesi.....	29
3.8. İzole Edilen <i>Klebsiella</i> Türlerinin ESBL Tayini ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi.....	30
3.8.1. <i>Klebsiella</i> türlerinin ESBL tayini.....	30
3.8.2. Mueller Hinton Agar (Merck).....	32
3.8.3. İzolatların Mueller–Hinton yüzeyine inokülasyonları.....	32
3.8.4. <i>Klebsiella</i> türlerinin antibiyotik direncinin araştırılması.....	32
4. BULGULAR.....	34
4.1. Örneklerden Elde Edilen <i>Klebsiella</i> İzolatlarının Kaynakları, Sayıları ve Tür Düzeyinde Tanımlanmaları.....	34
4.2. Tür Tayini Yapılmış İzolatların Virülans Faktörlerinin Araştırılması.....	39

Sayfa

4.2.1. Tür tayini yapılmış izolatların siderofor üretimlerinin saptanması.....	39
4.2.2. Tür Tayini yapılmış izolatların serum dirençliklerinin araştırılması.....	42
4.2.3. Tür tayini yapılmış izolatların hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi.....	46
4.3. Tür Tayini Yapılmış İzolatların Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz (ESBL) Tayinleri ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması.....	49
4.3.1. Tür tayini yapılmış izolatların ESBL tayinleri.....	49
4.3.2. Tür tayini yapılmış izolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi.....	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	81

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Kasaplık hayvan etlerinin bileşimi.....	3
Çizelge 2.2. <i>Klebsiella</i> türlerinin biyokimyasal reaksiyonları.....	9
Çizelge 4.1. Et ve tavuk örneklerinden izole edilen <i>Klebsiella</i> izolatlarının örneklerle göre sayısal ve yüzde dağılımları.....	34
Çizelge 4.2. Et ve tavuk örneklerinden izole edilen <i>Klebsiella</i> türlerinin örneklerle göre sayısal ve yüzde dağılımları.....	35
Çizelge 4.3. <i>Klebsiella</i> izolatlarının tür ayrımında kullanılan biyokimyasal testler ve tanımlanan türler.....	36
Çizelge 4.4. Kaynaklara göre <i>Klebsiella</i> türlerinin siderofor üretimleri.....	39
Çizelge 4.5. <i>Klebsiella</i> izolatlarının siderofor üretimleri.....	41
Çizelge 4.6. Kaynaklara göre <i>Klebsiella</i> türlerinin serum dirençlilikleri.....	42
Çizelge 4.7. <i>Klebsiella</i> izolatlarının serum dirençlilikleri.....	45
Çizelge 4.8. Kaynaklara göre <i>Klebsiella</i> türlerinin hemolitik aktiviteleri.....	46
Çizelge 4.9. Adlandırılan <i>Klebsiella</i> izolatlarının hemolitik aktiviteleri.....	48
Çizelge 4.10. <i>Klebsiella</i> türlerinin siderofor üretimi, serum direnci ve hemolitik aktivite gösteren izolatlarının sayıları ve oranları.....	49
Çizelge 4.11. <i>Klebsiella</i> izolatlarının ESBL üretimlerine göre dağılımları.....	50
Çizelge 4.12. <i>Klebsiella</i> türlerinin geniş spektrumlu beta laktamaz üretim oranları.....	50
Çizelge 4.13. Kaynaklara göre <i>Klebsiella</i> türlerinin ESBL üretimleri.....	51
Çizelge 4. 14. Adlandırılan <i>Klebsiella</i> izolatlarının ESBL tayinleri.....	52
Çizelge 4.15. CLSI M-100 S-19'a göre Enterobacteriaceae familyası için kullanılan antibiyotiklerin zon değerleri.....	53
Çizelge 4.16. <i>Klebsiella</i> türlerinin çalışılan antibiyotiklere direnç yüzdeleri.....	54
Çizelge 4.17. <i>K.pneumoniae</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları.....	55

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.18. <i>K.oxytoca</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları.....	56
Çizelge 4.19. <i>Klebsiella</i> izolatlarının kaynaklarına ve türlerine göre çalışılan antibiyotiklere dirençlilikleri.....	57
Çizelge 4.20. ESBL (+) <i>Klebsiella</i> izolatların çoklu dirençlilikleri.....	58
Çizelge 4.21. <i>Klebsiella</i> türlerine ait izolatların bazı antibiyotikler için direnç-ESBL üretimi ilişkisi.....	59
Çizelge 4.22. ESBL (+) ve ESBL (-) <i>Klebsiella</i> türlerinin beta laktam antibiyotiklere karşı dirençlilik yüzdeleri.....	59

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Gram (-) Hücre duvarında lipopolisakkaritler	12
Şekil 2.2. Sideroforlar aracılığı ile demir kazanımı	15
Şekil 2.3. β -laktamazların etki mekanizmaları.....	16
Şekil 4.1. Örneklerden izole edilen <i>Klebsiella</i> türlerinin oransal dağılımı.....	37
Şekil 4.2. İzolatların kaynaklara göre oransal dağılımı.....	37
Şekil 4.3. İzole edilen türlerin kaynak bazında oransal dağılımlar.....	38
Şekil 4.4. <i>K.pneumoniae</i> ve <i>K.oxytoca</i> türlerinin siderofor üretimlerine göre yüzde dağılımları.....	40
Şekil 4.5. <i>K.pneumoniae</i> ve <i>K.oxytoca</i> türlerinin serum dirençliliklerine göre yüzde dağılımları.....	43
Şekil 4.6. İzole edilen <i>Klebsiella</i> türlerinin insan serumuna duyarlılıklarının karşılaştırılması.....	44
Şekil 4.7. <i>K.pneumoniae</i> ve <i>K.oxytoca</i> türlerinin hemolitik aktivitelerine göre yüzde dağılımları.....	47
Şekil 4.8. <i>Klebsiella</i> izolatlarının ESBL üretimlerine göre yüzde dağılımları.....	49
Şekil 4.9. ESBL (-) ve ESBL (+) <i>Klebsiella</i> türlerinin karşılaştırılması.....	50
Şekil 4.10. ESBL (+) ve ESBL (-) <i>Klebsiella</i> türlerinin beta laktam antibiyotiklere karşı dirençlilik yüzdelerinin karşılaştırılması.....	60
Şekil 4.11. <i>K.pneumoniae</i> 'nin ESBL üretimine göre beta laktam antibiyotiklere dirençlik oranları.....	60
Şekil 4.12. <i>K.oxytoca</i> 'nın ESBL üretimine göre beta laktam antibiyotiklere dirençlik oranları.....	61

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nın elektron mikroskoptaki görünümü.....	5
Resim 2.2. <i>Klebsiella</i> türü bakterilerin mikroskop altında görünümü.....	5
Resim 2.3. <i>Klebsiella</i> 'nın Mac Concey Agardaki görünümü.....	6
Resim 2.4. Çift disk sinerji testi ile ESBL üretimi tayini.....	17
Resim 3.1. <i>Klebsiella</i> 'da hemoliz.....	23
Resim 3.2. Chrome Azurol S (CAS) besiyerinde siderofor üretimi.....	29
Resim 3.3. Çift disk sinerji testi ile ESBL üretimi tayini	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

°C

Santigrat derece

ml

Mililitre

g

Gram

β

Beta

mcg

Mikrogram

Kısaltmalar

Açıklama

FDA

U.S. Food and Drug Administration

CLSI

Clinical and Laboratory

Standarts Institute

ATCC

American Type Culture Collection

EMB

Eosin Methylene Blue Agar

CAS

Chrome Azurol Sulphate Agar

ESBL

Geniş spektrumlu beta laktamaz

HACCP

Hazard Analysis and Critical
Control Points

1. GİRİŞ

Et, eksojen aminoasitlerce zengin, gıdalar arasında üretimi kolay, hoş a giden lezzette, iştah açıcı, açlık duyumunu çabuk gideren, doyurucu yapısında hayati öneme sahip besin öğelerini yeteri miktarda içeren, bu nedenle beslenme bozukluklarını ve hastalıklarını kolaylıkla önleyen vazgeçilmez bir hayvansal besindir [Lillard, 1990].

Tavuk eti ise ucuz, sağlıklı ve besleyici bir gıdadır. Tavuk etinin yenilebilir kısmının yaklaşık dörtte birini, yüksek kalitedeki protein oluşturur. Aynı zamanda, insan beslenmesinde gerekli tüm aminoasitleri de içermektedir. B vitaminleri açısından iyi bir kaynak olan tavuk eti, demir ve fosfor bakımından da zengindir ve önemli düzeylerde niasin, riboflavin, tiamin ve askorbik asit ihtiva etmektedir. Özellikle fiyat açısından her kesime uygun olması, diğer et ürünlerine oranla içerik bakımından zengin oluşu, bunun yanında kolay sindirilir, düşük kalorili ve yağ oranının az oluşu nedeniyle hasta diyetlerinde de kullanılması tavuk eti ürünlerinin tüketimi en fazla gıda grubu içerisinde yer almasına neden olmaktadır [İnal, 1992].

Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerin patojenitesi göz önüne alındığında et ve et ürünlerine bulunabilecek patojen *Klebsiella* bakterilerinin varlığı insan sağlığı açısından büyük tehlike yaratmaktadır. *K.pneumoniae* pnömoni etkeni olan üst solunum yolu hastalıklarına neden olan ve hastane enfeksiyonlarından sıklıkla izole edilen önemli bir bakteridir. *K.oxytoca* hemorajik kolite neden olur. Bu türlerin bazı suşları siderofor üretimi, serum direnci ve hemolitik aktivite gibi önemli virölans faktörlerine sahiptirler. Bunun dışında *K.pneumoniae* potansiyel bir genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üreticisidir. Bu nedenle de insan ve hayvanların kemoterapisinde sıklıkla kullanılan 3. kuşak sefalosporinlere dirençlidir [Erdem, 1999 ; Bilgehan, 1995; Podschun and Ulman, 1998].

Yapılan literatür araştırmasında *Klebsiella* türlerinin klinik örneklerden izolasyonuna ve bazı virölans özelliklerine dair çalışmalara sıklıkla rastlanmış ancak *Klebsiella*'ların etten izolasyonu ile özellikle siderofor üretimi, serum dirençliliği, hemolitik aktivite gibi virölans özellikleriyle birlikte antibiyotik dirençlilikleri ve

geniş spektrumlu beta laktamaz üretimi ilişkisine ait toplu bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Klebsiella cinsi bakterilerin sayılan tüm bu özelliklerinden dolayı bu çalışma kapsamında Ankara’da tüketime sunulan etler *Klebsiella* türleri açısından incelenmiştir. İzole edilen *K.pneumoniae* ve *K.oxytoca* türlerinde bakterilerin siderofor oluşumu, serum direnci, hemolitik aktivite ve genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üretimi ve antibiyotik dirençlilikleri incelenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Etin Bileşimi

Genel olarak etin kimyasal bileşiminde % 75 su, % 20 protein, % 3 yağ, % 1 karbonhidrat, % 1 mineral madde ve vitaminler bulunur [Orduvho, 2009].

Çizelge 2. 1. Kasaplık hayvan etlerinin bileşimi [Orduvho, 2009]

	% Su	% Protein	% Yağ	Mineral Madde
SIĞIR	60-70	19	21.7	0.9
DANA	70	19.7	9.5	1
KOYUN	56.3	16.4	26.4	0.8
DOMUZ	42	11.9	45	0.6
AT	75.2	20.6	2.7	1
KEÇİ	70	19.5	7.9	1

Etlerin az veya çok miktarda yağ içermesi de hem et veren hayvanın çeşidine, hem de hayvanın yaşına göre değişir. Bu kimyasal bileşimde özellikle A, D, B12 vitaminlerinin önemli miktarlarda bulunması, etin bu vitaminler için iyi bir kaynak olduğunu gösterir. Ayrıca mineral bakımından da çinko, magnezyum, demir, fosfor, kobalt için de et, ana kaynak sayılır. Özellikle demir, ette organizmanın kolayca özümseyebileceği bir şekilde bulunur. Bunun için kansızlık çekenlere kırmızı et tavsiye edilir [Orduvho, 2009].

2.2. Ette Bulunan Mikroorganizmalar

Et ve et ürünleri mikroorganizmaların gelişip çoğalabilmeleri için uygun ortamdır. Bu tür gıdalar, yüksek nem içerikleri, azotlu besin öğeleri, mineral ve diğer gelişme faktörlerince zengin olmalarının yanında belirli oranda fermente olabilir karbonhidrat içermeleri ve pH değerlerinin bir çok mikroorganizmanın gelişmesine elverişli olması nedenleriyle mikrobiyal gelişme sonucu kolayca bozulma niteliği taşımaktadır [Slavik ve ark., 1991].

Kıyma haline getirilmiş etler, işlenmemiş etlere göre mikrobiyal bozulmaya daha duyarlıdır. Bunun nedenlerinden birisi kıyma haline getirilen ette hücre suyunun

dışarı çıkması ve mikroorganizmaların bunu iyi bir şekilde kullanabilmesidir. Diğer i ise et yüzeyinde bulunan mikroorganizmaların işlem sırasında kıyma kütesinin her tarafına dağılmasıdır [Göktan, 1990].

Et, heterojen özellik gösterdiğinden (bağ, epitel, sinir doku) dolayı ete bulaşan mikroorganizmaların gelişimi bulaştığı yere göre değişmektedir. İç kısımlara giren mikroorganizmalar daha çabuk bozulmaya neden olmaktadır. Taze ette bulunan en önemli bozulma etmeni bakteriler olarak, Gram (-) aerobik ve psikrotrofik *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* ve fakültatif anaerobik *Alteromonas putrefaciens* gösterilirken, Gram (+) *Lactobacillus spp.* ve *Brochotrix thermosphacta*'nın da taze ette yüksek oranda bulunduğu bilinmektedir. Et ve et ürünlerinin tüketimi sonucu insanlarda gıda enfeksiyonları ve zehirlenmelerine neden olan, halk sağlığı açısından önemli patojen mikroorganizmalar olarak *Salmonella enteritidis*, *L. monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Lactobacillus plantarum*, *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Micrococcus spp.* sayılabilir [Soyutemiz, 2000; Fung ve Thompson, 2001; Tunçel ve Tiryaki, 2001].

2.3. *Klebsiella* Türlerinin Genel Özellikleri

İnsan ve hayvanlarda barsak ve üst solunum yolları ile toprak ve sularda bulunan *Klebsiella* cinsi bakteriler *Enterobacteriaceae* ailesinin genel karakterlerini gösterirler [Bilgehan, 1993 ; Koneman EW ve ark.,1992].

Klebsiella cinsi adını, 19.yy'ın sonlarında yaşamış, Alman mikrobiyoloğu Edwin Klebs'den almıştır. Daha sonraları *Klebsiella pneumoniae*'nin yaptığı ağır öldürücü pnömoni tablosunu araştırmacı Carl Friedlander ayrıntılı bir biçimde tanımlanmıştır. Bundan dolayı *Klebsiella pneumoniae* yıllarca 'Friedlander basili' olarak adlandırılmıştır [Koneman EW ve ark.,1997 ; Ustaçelebi ve ark., 1999].

0,3-1×0,6-6µm boyutlarındaki bu bakteriler tek tek, çiftler halinde veya kısa zincirler yaparak ürerler. Hareketsiz ve sporsuz olup etraflarında polisakkarit yapısında kapsül

suşların sayısında geçmiş yıllara göre sürekli bir artış göstermektedir [Podschun and Ulman, 1998].

Literatürde yayınlamış raporlara göre 1983-1991 yılları arasında bildirilen 145 salgın nozokomiyal enfeksiyonun 13 tanesine *Klebsiella* bakterileri neden olmuştur [Doebbeling and Wenzel, 1993 ; Horan ve ark., 1988]. *Klebsiella* bakterilerinin ABD’de görülen hastane enfeksiyonlarının % 3-7’sinden sorumlu oldukları tespit edilmiştir [Horan ve ark., 1988].

Klebsiella pneumoniae

K.pneumoniae hareketsiz ve indol negatif bir bakteri olup laktozu fermente etme yeteneğine sahiptir. *K.pneumoniae* sağlıklı bireylerin solunum yollarında ve dışkılarında % 5-10 oranında bulunmakla beraber doğada da çok yaygın olarak bulunmaktadır [Erdem, 1999]. Bu bakteri geniş spektrumlu beta laktamaz üretebilmekte olup birçok antibiyotik türüne karşı dirençlidir [Moland ve ark., 1999; Kandemir ve ark.,1999].

K.pneumoniae tipik olarak pnömoni oluşturur. Pnemoni fırsatçı bir enfeksiyon olarak değerlendirilmektedir. Bunun nedeni ise *Klebsiella pnemoni*’si solunum yollarının savunma sistemi bozuk olan alkolizm, kronik tıkalı akciğer hastalığı gibi ağır problemi olan kişilerde görülür. Bu hastalık oldukça ağır seyreder ve ölüm oranı yüksektir . Pnömoni olgularından K1, K3, K4 ve K5 antijenine sahip serotipler sıklıkla izole edilmektedir. Ayrıca K1 ve K2 serotipleri sahip oldukları kapsül tiplerinden dolayı en fazla virülans etkiye sahip oldukları belirlenmiştir . *K.pneumoniae* pnömoniden başka üriner yol enfeksiyonlarına ve bakteriyemiye yol açar. Yenidoğan ünitelerinde çoklu dirençli *Klebsiella*’lara bağlı hastane enfeksiyonları görülür. *K.pneumoniae* ise *Klebsiella* türleri arasında en fazla hastane enfeksiyonuna neden olan türdür [Erdem, 1999]. Baran ve arkadaşları Nisan-Ağustos 1993 tarihleri arasında İstanbul SSK Bakırköy Kadın ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi’nde yaptıkları çalışmada, 18 yenidoğan sepsis olgusunda çoğul dirençli *Klebsiella pneumoniae* izole etmişlerdir.

Bu vakaların görüldüğü bebeklerin %72'si daha önce geniş spektrumlu antibiyotik kullanmıştır [Baran ve ark., 1994].

Klebsiella oxytoca

K.oxytoca ile *K.pneumoniae* arasında birçok benzerlik vardır. *K.oxytoca* mikrobiyolojik olarak indol yapabilmesi ile *K.pneumoniae*'den ayrılır [Maslow ve ark., 1993].

K.oxytoca oluşturduğu hastane enfeksiyonlarının yanı sıra antibiyotik kullanımına bağlı olarak gelişen hemorojik kolit'in de nedenidir [Minami ve ark.1994]. Chida ve arkadaşları Japonya'da yaptıkları çalışmada 11 hastada penisilin etkili hemorojik kolit olgusu saptamışlardır [Chida ve ark., 1986]. Ayrıca geniş spektrumlu beta laktamaz ürettiği de kanıtlanmıştır [Nijsen ve ark.,2004 ; Yakuphanogulları ve ark., 2004] . Bu sebeple birçok antibiyotiğe karşı dirençlidirler [Prodinger ve ark., 1996 ; Çetinkaya ve ark., 2005].

Çizelge 2.2. *Klebsiella* Türlerinin Biyokimyasal Reaksiyonları [Aydoğan ve ark, 2000]

Özellikler	<i>K.pneumoniae</i> subsp			<i>K.oxytoca</i>	<i>K.terrigena</i>	<i>K.planticola</i>	<i>K.ornitholytica</i>
	<i>pneumoniae</i>	<i>ozanae</i>	<i>rhinoscleromatis</i>				
İndol	-	-	-	+	-	D	+
Ornitin Dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-	+
Lizin Dekarboksilaz	+	D	-	+	+	+	+
Pektat degranülasyon	-	-	-	+	-	-	-
Laktozdan gaz oluşumu	+	-	-	-	-	-	-
10°C'de üreme	-	-	-	+	+	+	+
D-melezitozdan asit oluşumu	-	-	-	D	+	-	-
L-sorbozdan asit oluşumu	D			+	+	+	
m-hidroksibenzoat oluşumu	-	-	-	+	+	-	-
Hidroksi-Lprolin oluşumu	D			D	D	+	
Malonat oluşumu	+	-	+	+	+	+	+
Metil kırmızısı testi	-	+	+	-	+	D	+
Voges-Proskauer testi	+	-	+	+	+	+	+

(D) Değişken, (+) Pozitif, (-) Negatif

2.3.1. *Klebsiella*'ların virulans faktörleri

Patojen bakterilerin konağın vücuduna girebilmesi, üremesi, çoğalması ve belirli hasarlar meydana getirebilmesi konağın savunma mekanizmaları ve bakterinin virulans faktörleri ile yakından ilişkilidir [Shokouhizadeh, 1996].

Klebsiella türü bakterilerin patojenite derecelerinin belirlenmesinde günümüzde 5 faktör kullanılır . Bunlar kapsül antijenleri, fimbria, lipopolisakkaritler, serum direnci ve siderofor üretimidir. Bunların dışında bakterilerin patojenitesini etkileyen diğer

faktörler ise bakteriyosin üretimi, hemolitik aktivite ve geniş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) varlığıdır [Yakar, 2006].

Kapsül antijeni

Klebsiella'ların polisakkarit yapılı kapsülü 4-5 şeker ve üronik asit ihtiva eder [Podschun and Ulman, 1998 ; Podschun and ark., 1986]. Kapsül bakteriyi çevrenin zararlı etkilerinden, fagositozdan ve serumun bakteriyosit etkisinden korur. Ayrıca *Klebsiella* kapsül polisakkariti makrofajların fonksiyonel kapasitelerini azaltır [Sahly ve ark., 2000; Bonte and Joly, 1999].

Klebsiella türü bakteriler polisakkarit yapısındaki O ve K antijenlerine göre serolojik olarak tiplendirilirler. Günümüzde K antijenlerine bağlı serolojik tiplendirmenin ön planda olmasının nedeni 82 tip K antijeninin varlığına karşın sadece 12 tip O antijeninin tanımlanmasıdır [Podschun and Ulman, 1998].

Bu serotipler içerisinde özellikle K1 ve K2 en yüksek virülansa sahip serotiplerdir [Kebha and Nissimov, 1995]. Kapsül yapısında mannoz bulunduran K7 ve K12 serotipleri daha düşük virülansa sahipken mannoz bulundurmayan K1 ve K2 serotiplerinde virülansın en yüksek düzeyde olduğu gözlemlenmiştir [Ofek and ark., 1993 ; Merino and ark., 1992]. Bu sebeple virülans derecesinin mannoz içeriğine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Mannoz bulunduran kapsüller polisakkaritlere (CPS) sahip serotipler makrofajlar tarafından tanınıp fagositoza uğrarken, bulundurmayan serotipler fagositoza maruz kalmadıklarından virülans faktörleri yüksektir [Yakar, 2006].

Fimbria(pili)

Birçok patojen bakteri için infeksiyonda ilk adım epitel hücrelerine yapışmadır. Yapışma yeteneği virülans ile ilgilidir [Würker ve ark., 1990; Yalçın, 1989]. Epitel hücrelerine yapışma bir taraftan bakterinin yüzey faktörlerine diğer taraftan epitel hücrelerindeki reseptörlere bağlıdır [Yalçın, 1989]. Bakteriler , glikoprotein veya

glikolipit yapısındaki bu reseptörlerin karbonhidrat kısımlarına bağlanırlar. Reseptörlerin karbanhidrat bileşenlerinde mannoz, fruktoz, galaktoz gibi şekerler yer almaktadır. Bakteriler bu reseptörlere fimbriyaları aracılığı ile tutunurlar.

Fimbrialar , yapışmadan sorumlu en önemli bakteri adezinleri ya da ligandları olup 3-25 nm çapında, 0.3-1µm boyunda, kirpiklerden daha kısa ve daha ince, düzgün çıkıntılardır. Kirpiklerle yüzeyel olarak benzerlikleri varsa da hareketle ilişkileri yoktur. Fimbrialar genellikle gram negatif bakterilerde bulunmaktadır. Fakat bazı gram pozitif bakterilerde bulunmaktadır.

Çevre şartları fimbriaların oluşumunu etkiler. Oksijen , sıcaklık, pH ve bakterilerin içinde bulunduğu ortam bunlar arasında sayılabilir. Fimbriaların mekanik olarak ortadan kaldırılmalarının bakteri hücresi üzerine zararlı bir etkisi yoktur. Bakterilerde birçok tip fimbria bulunur ve bunların kalınlıkları , uzunlukları, antijen özgüllükleri, tutundukları reseptörlerin özgünlükleri farklıdır [Akan, 1992].

Bakteri stoplazmik membranından kaynaklanıp dışarı doğru uzanan fimbrialar protein yapısında olup, pilin adı verilen ve birbirleri ile sarmal şekilde birleşmiş alt ünitelerden meydana gelmektedir [Akan, 1992 ; Salyers, 1994 ; Tunçkanat, 1993].

Klebsiella'lar iki tip fimbria bulundururlar. Biri tip 1 (normal fimbria), diğeri ise tip 3 pilidir. Tip 1 fimbrialar eritrositleri aglütine edebilirler. Uçlarında lektin yapısında yüksek yapışma kapasiteli adezin molekülleri bulunur. Tip 1 fimbrialar konak hücreye kolonizasyon için önemlidir [Merino and ark., 1992 ; Firon and ark., 1984].

Tip 3 pili ise sadece tanin muamelesine maruz kalmış eritrositlere aglütine olur[Clegg and Gerlach, 1987]. Patojenitedeki rolü hala tam olarak açıklanamamıştır [Bilgehan, 1995].

Serum direnci

Konağın mikroorganizmalar tarafından istila edilmesine karşı ilk savunma şekillerinden biri serumun bakterisit etkisidir. Serum bakterisit etkisi temel olarak kompleman proteinlerle başlatılır ve bu kompleman sistemi sayesinde savunma mekanizması başlar. Bu mekanizmaya karşılık olarak patojenik mikroorganizmalar serumun bakterisit özelliğini etkisiz hale getirecek stratejiler geliştirmiştir [Taylor, 1983].

Çoğu kommensal gram negatif bakteri insan serumunun bakterisit etkisine duyarlıdır. Oysa patojenik suşlar çoğunlukla serum direnç özelliği gösterir. İnsan serumunun bakterisit etkisine karşı dayanıklılık, birçok gram negatif bakteri için patojeniteyi indükler [Taylor, 1988].

Serumun bakterisit etkisinin asıl rolünün mikroorganizmaların kanda bulunmasının ve yayılmasının önlenmesi olduğu düşünülse de bakteriyel seruma duyarlılığın derecesi mikroorganizmalar için patojenitenin derecesi ve enfeksiyonun ne kadar zamanda gerçekleştirilebileceğini de tayin eder [Podschun and Ulman, 1998].

Siderofor üretimi

Demir, biyokatalist olarak demir yerine kobalt ve mangan kullanan Laktobasil cinsi bakteriler hariç, diğer tüm mikroorganizmalar için zorunlu bir gelişme faktörüdür. Biyokimyasal reaksiyonlarda ve oksijen taşınmasında gerekli olduğu için canlı organizmalar demir kazanma , taşıma ve depolama için etkili sistemler geliştirmişlerdir. Dokularda ve mukozalarda serbest demirin düşük konsantrasyonlarda olması, konağın bakteri enfeksiyonuna karşı geliştirdiği non-spesifik bağışıklık mekanizmalarından biridir. Bu nedenle mikroorganizmalar, insan vücudunda canlı kalabilmek için demir sağlamaya yönelik karşı mekanizmalar geliştirmişlerdir [Tekin, 1998].

İnsanlarda demirin çoğu ferritin veya hemin bileşikleri olarak hücre içinde bulunurlar. İnsan vücudunda bol miktarda demir bulunmasına karşın, serbest demir miktarı bakterilerin çoğalmasını sağlayacak miktardan düşüktür. Bakteriler , iyi üreyebilmek için 10^{-5} mol/L serbest demir iyonuna gereksinim duyarlar. Vücut sıvılarında sadece yaklaşık olarak 10^{-20} mol/L serbest demir iyonu bulunmaktadır [Erdem, 1969].

Bakterilerin demir elde etme yollarından en iyi araştırılmış olanı sideroforlardır. Sideroforlar demir bağlamaya yüksek eğilim gösteren, molekül ağırlıkları 1000 Da'dan düşük bileşiklerdir. Birçok enterik bakteri (*E.coli*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*) enterobaktin (fenolat) ve aerobaktin (hidroksamat) olmak üzere iki tip siderofor üretir [Tekin, 1998]. Bunların arasında en yaygın grup fenolat tipi sideroforlardır. Bunların ise en çok bilinen türü enterobaktindir. Fakat bu sideroforun bakteriyel virülanstaki rolü henüz kesin olarak tespit edilebilmiş değildir [Podschun and Ulman, 1998 ; Nassif and Sansonetti, 1986]. Aerobaktin üretimi bakteriyel virülans açısından oldukça önemlidir [Podschun and Ulman, 1998].

Klebsiella türünde hem enterobaktin hem de aerobaktin üretimi vardır. Enterobaktin hemen hemen tüm *Klebsiella* türleri tarafından üretilmesine rağmen, aerobaktin çok az tür tarafından üretilmektedir. *Klebsiella* türlerinde enterobaktinler aerobaktinlere göre ferrik demir alımında çok daha etkilidirler [Griffits, 1987]. Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular göstermektedir ki aerobaktin sideroforu *Klebsiella*'ların patojenitesinde önemli bir rol oynamamaktadır [Podschun and Ulman, 1998 ; Brock and ark., 1991].

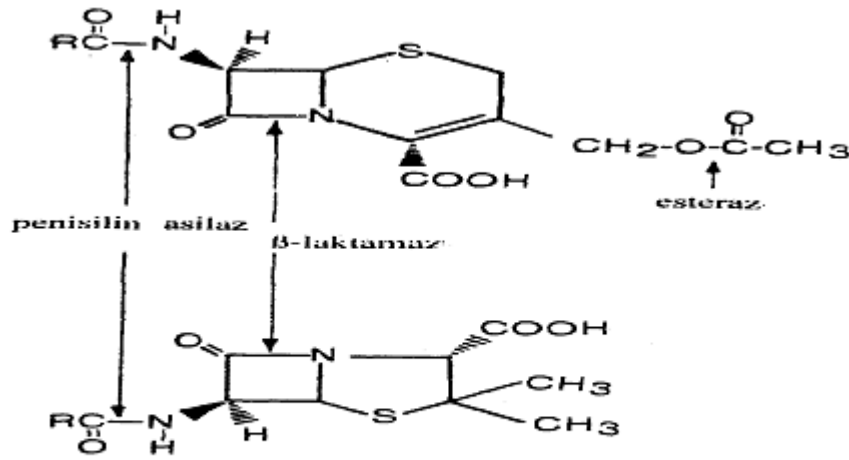
Çoğu bakteri konak organizma içerisindeki demir kaynaklarını siderofor denilen demir bağlama eğilimli ve düşük moleküler ağırlığa sahip olan demir kazanıcılarını kullanarak almaya çalışır [Griffiths,1998]. Bu sideroforlar konak proteinlerinin demir bağlarını koparıp demiri serbest hale getirirler. Bu sayede bakteri için gerekli olan demiri hücrelerin içine taşınmaya hazır hale getirirler [Perry and San Clemente, 1979].

Klebsiella'lar için bir virölans faktörü olarak ele alınmaktadır [El-Sukhon, 2002 ; Barrett and Blake, 1981].

2.3.3. *Klebsiella*'larda antibiyotik direnci ve geniş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üretimi

Antibiyotikler içerisinde en büyük grubu oluşturan β -laktamlar; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemlerden oluşmaktadır [Koneman, 1992]. Bu grup antibiyotikler penisilin bağlayan protein (PBP) olarak bilinen transpeptidaz, karboksipeptidaz ve endopeptidaz enzimlerine bağlanarak bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki ederler.

β -laktamazlar; β -laktam halkasındaki amid (C-N) bağına parçalayıp antibiyotiği hidrolize ederek etki ederler .



Şekil 2.3. β -laktamazların etki mekanizmaları [Nas, 1996].

β -laktamazlar Gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabakaya yapışık veya bakteri etrafına salınırken; Gram negatif bakterilerde sitoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik alanda yer alırlar [Nas, 1996].

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Bu çalışma kapsamında çeşitli marketlerden ve kasaplardan temin edilen 15 adet dana kıyma ,15 adet dana kuşbaşı , 15 adet tavuk göğüs ve 15 adet tavuk but olmak üzere toplam 60 et örneğiyle çalışılmıştır.

3.1.1. Örneklerin alınması

Çalışmada kullanılan numunelerin tamamı FDA‘da belirtilen esaslara göre steril cam kaplara alınarak ağızları kapatılmış ve soğuk zincir ile laboratuara getirilerek aynı gün analize alınmıştır [Cfsan.fda, 2009].

3.2. Metod

25 gr et örneği steril koşullarda tartılarak parçalayıcıda parçalanmış, bu işlemi takiben 225 ml steril tamponlanmış peptonlu su (TPW) ile seyreltilmiştir. TPW kullanılarak 10^{-3} ‘lük dilüsyonu hazırlanmıştır.

Tamponlanmış peptonlu su – TPW (Merck)

Bileşimi;

Pepton	: 10 g/L
Sodyum klorür (NaCl)	: 5 g/L
Di sodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	: 9 g/L
Potasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4)	: 1,5 g/L
Distile su	: 1000 ml

Dehidre besiyeri 25,5 g/L olacak şekilde distile su içerisinde eritilmiş, uygun cam malzemeye dağıtılarak 121°C ’de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklav sonrası pH kontrolü 25°C ’de $7,0 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır.

3.3. Örneklerin Besiyerine İnokülasyonu

Homojenize edilerek ekime hazırlanmış 10^{-3} 'lük dilüsyonlardan steril pipetlerle alınan 0,1 ml'lik örnekler Eosin Metilen Blue Agar (EMB) besiyerine inoküle edilmiştir. Örnekler için kullanılan inkübasyon süreleri 37°C'de 24-48 saat olarak gerçekleşmiştir.

3.3.1. Eosin Metilen Blue Lactose Sucrose Agar (EMB) (MERCK)

Bileşimi;

Pepton	: 10 g/L
Laktoz	: 5 g/L
Sükroz	: 5 g/L
Dipotasyum hidrojen fosfat	: 2 g/L
Agar agar	: 13,5 g/L
Eozin Y	: 0,4 g/L
Metilen mavisi	: 0,07 g/L
Distile su	: 1000 ml

Dehidre besiyeri 36 g/L olacak şekilde hazırlanarak 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklav sonrası pH kontrolü 25°C'de $7,1 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır ve plaklara dökülmüştür.

3.4. *Klebsiella* Türlerinin İzolasyonu

İnoküle edilmiş plaklarda *Klebsiella* karakteristiği gösteren koloniler (EMB agarda *K.pneumoniae* ve *K.oxytoca* için büyük viskoz pembe-mor koloniler) saf kültür elde etmek amacı ile EMB Agara ekilip 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir [Bilgehan, 1995].

3.5. *Klebsiella* Türlerinin Tanımlanması

Kültürlerin ileri identifikasyonları için biyokimyasal test yöntemleri kullanılmış olup, *K.pneumoniae* ve *K.oxytoca* türleri Bergey's Manuel of Systemic Bacteriology [Claus ve ark., 1986] ve Klinik Mikrobiyoloji ve Tanı'ya [Bilgehan, 1995] göre identifiye edilmiştir. Bu aşamada identifikasyon amacı ile IMVIC testleri, laktoz fermantasyon testi ve üreaz testi yapılmıştır. Çalışma süresince *K.pneumoniae* ATCC® 700603 referans suş olarak kullanılmıştır.

3.5.1. İndol testi

5 ml. Tryptone Water (Merck) besiyerine indol testi uygulanacak olan izolat ekilerek 24 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında kültür üzerine 0,5 ml. Kovacs' İndol Çözeltisi ilave edilmiştir. İndol besiyerinin üzerinde birkaç dakika içinde kırmızı halka oluşması (+), oluşmaması ise (-) sonuç olarak değerlendirilmiştir [Merck , 2004].

Tryptone water (İndol Besiyeri) (Merck)

Bileşimi;

Pepton (kazeinden) (triptofan)	: 10 g/L
Sodyum klorür	: 5 g/L
Distile su	: 1000 ml

Dehidre besiyeri 15g/L olacak şekilde damıtık su içinde çözdürülmüş ve tüplere 10'ar ml dağıtılarak 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. pH kontrolü 25°C'de $7,3 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır.

Kovacs' indol reagent (Merck)

İçeriği; Tetradimetilaminobenzaldehit, A-butanol, Hidroklorik asit ve Distile su

3.5.2. Metil-Red testi (MR)

5 ml. MR-VP Broth besiyerine (Merck) izolatlar inoküle edilmiş ve 96 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası besiyerine 1 ml MR indikatörü ilave edilmiştir. Test sonucunda kırmızı renk oluşumu (+), sarı renk oluşumu ise (-) olarak değerlendirilmiştir [Merck , 2004].

Metil-red voges proskauer broth (MR-VP Broth) (Merck)

Bileşimi;

Pepton (etten)	: 7,0 g/L
D(+) glikoz	: 5,0 g/L
Fosfat tamponu	: 5,0 g/L
Distile su	: 1000 ml

Dehidre besiyeri 17 g/L olacak şekilde hazırlanarak tüplere 5’er ml dağıtılarak 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklav sonrası pH kontrolü 25°C’de $6,9 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır [Merck , 2004].

Metil-red indikatörü

Bilesimi;

Metil red (Merck)	: 0,1 g/L
%95’lik etil alkol	: 300 ml
Distile su	: 200 ml

0,1 gram metil red (Merck) 300 ml %95’lik etil alkol içerisinde çözdürüldükten sonra distile su ile 500 ml’ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.5.3. Voges-Proskauer testi (VP)

5 ml. MR-VP Broth besiyerine (Merck) izolatlar inoküle edilmiş ve 48 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinden 48 saat sonra alınan 1 ml kültür bir tüpe aktarılarak üzerine 0,6 ml Barritt çözeltisi (α -naphthol çözeltisi) ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra üzerine 0,2 ml O’Meara çözeltisi (potasyum hidroksit çözeltisi) ilave edilmiş ve tekrar karıştırılmıştır. 4 saat sonra sonuçlar vişne çürüğü-pembe renk oluşumu pozitif, sarı renk ise negatif olarak değerlendirilmiştir [Merck , 2004].

Barritt çözeltisi

Bilesimi;

α -naftol	: 5 g/L
%95’lik etil alkol	: 100 ml

Naftol alkolde eritilerek hazırlanmıştır.

O’Meara çözeltisi

Bilesimi;

Potasyum hidroksit (KOH)	: 40 g/L
Distile su	: 100 ml

KOH distile suda çözdürülerek hazırlanmıştır.

3.5.4. Sitrat testi

Test tüplerine yatık olarak hazırlanmış Simmons Citrat Agar (Merck) besiyeri yüzeyine izolatların inokülasyonu yapılmıştır. Besiyeri 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonunda besiyeri renginin koyu maviye dönüşmesi pozitif, orijinal yeşil renkte kalması negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir [Merck , 2004].

Simmons Citrate Agar (Merck)

Bileşimi;

Amonyum dihidrojen fosfat	: 1,0 g/L
Dipotasyum hidrojen fosfat	: 1,0 g/L
Sodyum klorür (NaCl)	: 5,0 g/L
Sodyum sitrat	: 2,0 g/L
Magnezyum sülfat	: 0,2 g/L
Brommthymol blue	: 0,08 g/L
Agar-agar	: 13,0 g/L
Distile su	: 1000 ml

Dehidre besiyeri 22,3 g/L olacak şekilde hazırlanarak 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklav sonrası pH kontrolü 25°C’de $6,6 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır. Steril besiyeri tüplere yatık agar olarak hazırlanmıştır [Merck , 2004].

3.5.5. Laktoz testi

VRB (Violet Red Bile) Agar besiyerine (Merck) izolatlar inoküle edilmiş ve 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası besiyerinde üreyen kırmızı koloniler laktoz pozitif, renksiz koloniler ise laktoz negatif olarak değerlendirilmiştir [Merck , 2004].

VRB (Violet Red Bile) Agar (Merck)

Bileşimi;

Pepton (etten)	: 7,0 g/L
Yeast extract	: 3,0 g/L
Sodyum klorür (NaCl)	: 5,0 g/L
Laktoz	: 10,0 g/L
Nötral red	: 0,03 g/L
Bile salt karışımı	: 1,5 g/L
Crystal violet	: 0,002 g/L
Agar-agar	: 13,0 g/L
Distile su	: 1000 ml

Dehidre besiyeri 39,5 g/L olacak şekilde hazırlanarak distile su içinde tamamen çözülmesi sağlanacak şekilde karıştırılarak kaynatılmıştır ve kaynama sıcaklığında 2 dakika tutulduktan sonra soğutulmuş ve pH kontrolü 25°C’de $7,4 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır. Steril plaklara 12,5’ar ml dökülmüştür [Merck , 2004].

3.5.6. Üreaz testi

Tüplere 5’er ml olarak hazırlanmış Urease Broth (Merck) besiyerine üreaz testi uygulanacak olan izolat ekilerek 24-48 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında besiyerinin orjinal portakal kırmızısı renginden sarıya dönüşmesi negatif (-), kırmızıya dönüşmesi pozitif (+) sonuç olarak değerlendirilmiştir. Her bir test için 4’er adet Urease Broth Besiyeri hazırlanarak, 1. tüp ekim yapılmadan kontrol olarak kullanılmış, birine test edilecek kültür inoküle edilmiş ve diğer iki besiyerine ise pozitif ve negatif kalite kontrol suşları inoküle edilerek renk değişimleri izlenmiştir [Merck , 2004].

Üreaz broth (Merck)

Bileşimi;

Maya ekstraktı	: 0,1 g/L
Potasyum dihidrojen fosfat	: 9,1 g/L
Sodyum hidrojen fosfat	: 9,5 g/L
Üre	: 20,0 g/L
Fenol kırmızısı	: 0,01 g/L
Distile su	: 1000 ml

Dehidre besiyeri 38,5 g/L olacak şekilde hazırlanarak distile su içinde(işlemden önce otoklavda steril edilmiştir) tamamen çözülmesi sağlanacak şekilde karıştırılarak kaynatılmıştır. Steril tüplere 3'er ml dağıtıldıktan sonra pH kontrolü 25°C'de $6,8 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır [Merck , 2004].

3.6. İzole Edilen *Klebsiella* Türlerinin Stoklanması

İdentifikasyonu yapılmış izolatlar ileriki testlerde kullanılmak üzere Triptoz Soy Agara pasaj alınarak +4°C'de muhafaza edilmişlerdir.

3.6.1. Triptoz Soy Agar (TSA) (Merck)

Bileşimi;

Pepton (kazeinden)	: 15,0 g/L
Peptone (soymealdan)	: 5,0 g/L
Sodyum klorür (NaCl)	: 5,0 g/L
Agar-agar	: 15,0 g/L
Distile su	: 1000 ml

Dehidre besiyeri 40,0 g/L olacak şekilde hazırlanarak 120°C’de 15 dakika steril edilmiştir. pH kontrolü 25°C’de $7,3 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır. Steril tüplere yatık olarak hazırlanmıştır [Merck , 2004].

3.7. *Klebsiella* İzolatlarının Virülans Faktörlerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada izolatların virülans faktörlerinin tespit edilmesi amacıyla hemolitik aktiviteleri, siderofor üretimleri ve serum dirençlilikleri araştırılmıştır.

3.7.1. *Klebsiella* türlerinin hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi

Tanımlamaları yapılan *Klebsiella* türlerinin hemolitik aktiviteleri % 5 defibrine koyun kanlı agarda (Orbak) test edilmiştir. Saflaştırılan örneklerden alınan bakteriler kanlı plaklara inoküle edilmiş ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda çevrelerindeki eritrositleri parçalayarak agarda saydamlaştırma oluşturan türler hemolitik olarak değerlendirilmiştir [Merck , 2004].

% 5 Koyun kanlı agar (Orbak)

% 5 defibrine koyun kanı ihtiva eden hazır besiyerinin sterilite kontrolü besiyeri 24 saat 37°C’de inkübe edilerek yapılmıştır. Besiyerinin kalite kontrolünde ise *S.aureus* ATCC® 25923 suşu kullanılmış ve bu suşun kanlı agarda gösterdiği β -hemoliz aktivitesi esas alınmıştır.

edilerek hazırlanmıştır). Hazırlanan solüsyona 40 ml distile suda çözdürülmüş 72,9 mg HDTMA karıştırılarak yavaşça eklenmiştir.

Hazırlanan koyu mavi likit 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir.

Basal agarın hazırlanması

Bileşimi:

3-(N-morpholino)propane sulfonic asit (MOPS)	: 3 g
Agar	: 1,5 g
Sodyum klorür	: 0,05 g
Potasyum fosfat	: 0,03 g
Amonyum klorür	: 0,01 g
L-asparajin	: 0,5 g
Distile su	: 83 ml
% 50 NaOH	: 5 ml

100 ml basal agar hazırlamak için agar hariç yukarıda sıralanan tüm maddeler 83 ml distile suda eritilmiş ve besiyerinin pH’ı %50’lik NaOH eklenerek 6,8 ‘e ayarlanmıştır. Daha sonra 1,5 g agar karıştırılarak ilave edilmiştir. Karışım 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir.

CAS Agar plaklarının hazırlanması

Sterile edilmiş basal agar ve CAS indikatörü öncelikle 50°C sıcaklıktaki bir su küvetinde soğutulmuştur. Bu işlemi takiben 2 ml % 50’lik glukoz solüsyonu basal agar üzerine karıştırılarak eklenmiştir. CAS indikatörü de bu karışımın üzerine yavaşça ve karıştırılarak ilave edilmiştir. Steril plaklara bu karışımdan 30 ml dökülmüştür.

dirençli olarak, kontrol tüpü 5 saate kadar renk değıştirdiği halde deney tüpü 6,7 veya 8 saatte değıştirdi ise orta duyarlı olarak ve son olarak kontrol tüpü 5 saat sonunda sarıya döndüğü halde deney tüpünün rengine 8 saat sonunda bir değışme gözlenmediyse duyarlı olarak değeriendirilmiştir.

Bromothymol blue broth

Bileşimi;

Pepton (kazeinden)	: 10 g/L
Sodyum Klorür (NaCl)	: 5 g/L
Glukoz	: 10 g/L
Bromothymol blue	: 0.025 g/L
Distile su	: 1000 ml

Bileşimde sıralanan maddeler glikoz hariç 1 litre distile suda çözdürölmüş ve 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Bunun üzerine 10 g glikoz eklenmiş ve son karışım 20 dakika 100°C’lik su banyosunda ısıtılmıştır. pH kontrolü 25°C’de $7,2 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır. Steril tüplere dökölmüştür.

3.8. İzole Edilen *Klebsiella* Türlerinin ESBL Tayini ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

İzolatların genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üretip üretmedikleri çift disk sinerji yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları ise Disk Difüzyon yöntemi [CLSI M-02 A-10 , 2009] ile araştırılmıştır.

3.8.1. *Klebsiella* türlerinin ESBL tayini

İzole edilmiş *Klebsiella* türlerinin ESBL varlıkları çift disk sinerji yöntemi kullanılarak kontrol edilmiştir. Çalışma CLSI (eski adı ile NCCLS) tarafından önerilen Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi standartlarına göre yapılmıştır [CLSI M-02 A-10 , 2009].

3.8.2. Mueller Hinton Agar (Merck)

Bileşimi;

Meat infusion	: 2,0 g/L
Kazein hidrolizat	: 17,5 g/L
Nişasta	: 1,5 g/L
Agar-agar	: 13,0 g/L

Dehidre besiyeri 34 g/L olacak şekilde hazırlanarak 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklav sonrası pH kontrolü 25°C’de $7,4 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır. Besiyerleri CLSI önerileri doğrultusunda steril plaklara 4 mm kalınlığında dökülmüştür.

3.8.3. İzolatların Mueller–Hinton yüzeyine inokülasyonları

İzolatların triptoz soy agardan alınan kültürleri Mueller Hinton Agara ekilip 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Mueller Hinton Agardan alınan kültürler steril serum fizyolojik ile sulandırılarak 0,5 Mc Farland standardına göre ayarlanmıştır. Besiyeri üzerine 60 derecelik açıyla üç kez çevrilerek bakteri sürülmüş ve plağa homojen olarak yayılmıştır.

0,5 Mc Farland standardının hazırlanması

0,5’lik Mc Farland bulanıklık standardı 0,5 ml % 1,175 w/v baryum klorür dihidrat ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) üzerine 99,5 ml %1’lik H_2SO_4 eklenerek hazırlanmıştır.

3.8.4. *Klebsiella* türlerinin antibiyotik direncinin araştırılması

Antibiyotik duyarlılık testi CLSI önerilerinde değinildiği üzere Kirby-Bauer Disk Difüzyon yöntemi izlenerek yapılmıştır. Çalışmada Meropenem 10 mcg (MEM), İmipenem 10 mcg (IPM), Amikasin 30 mcg (AK), Siprofloksasin 5 mcg (CIP), Gentamisin 30 mcg (CN), Sefotaksim 30 mcg (CTX), Seftazidim 30 mcg (CAZ),

Trimetoprim/sulphamethoxazole 1,25/23,75 mcg (SXT), Sefepim 30 mcg (FEP), Ampisilin/sulbaktam 10/10 mcg (SAM), Aztreonam 30 mcg (ATM), Piperasilin/tazobaktam 100/10 mcg (TPZ), Ampisilin 10 mcg (AM) ve Amoksisilin 25 mcg (AX) antimikrobiyal duyarlılık diskleri (Bioanalyse®) kullanılmıştır. Sonuçlar CLSI M-100 S-19'a göre yorumlanmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada çeşitli kaynaklardan temin edilen 15 adet kıyma, 15 adet kuşbaşı, 15 adet tavuk but ve 15 adet tavuk göğüs örneği olmak üzere toplam 60 örnekle çalışılmıştır. Bu örneklerden *K.pneumoniae* ve *K.oxytoca* izole edilerek tanımlanmıştır.

İzolatların hemolitik aktivitesi, siderofor tayini, serum direnci gibi bazı virülans faktörleri ile antibiyotik dirençlilikleri ve türlerde ESBL varlığı araştırılmıştır.

4.1. Örneklerden Elde Edilen *Klebsiella* İzolatlarının Kaynakları, Sayıları ve Tür Düzeyinde Tanımlanmaları

Bu çalışma kapsamında toplam 60 et örneğinden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının sayıları ve izole edildikleri kaynaklar Çizelge 4.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.1. Et ve tavuk örneklerinden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının örneklere göre sayısal ve yüzde dağılımları

Örnekler	Çalışılan Örnek Sayısı	İzolat Sayısı	Yüzde (%)
Kıyma	15	15	100
Kuşbaşı	15	11	73
Tavuk But	15	12	80
Tavuk Göğüs	15	7	47
Toplam	60	45	75

Çalışılan toplam 60 kıyma, kuşbaşı, tavuk but ve tavuk göğüs örneğinden 45 *Klebsiella* izolatu elde edilmiştir.

Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere en fazla *Klebsiella* izolatu kıymadan elde edilmiştir. Tavuk göğüs ise en az izolatin elde edildiği kaynaktır. *Klebsiella* izolatlarının en sık rastlandığı kaynaklar sırasıyla kıyma, tavuk but, kuşbaşı ve tavuk göğüstür.

Elde edilen 45 izolattan 24’ü (%53) *K.oxytoca* ve 21’i (%47) *K.pneumoniae* olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Et ve tavuk örneklerinden izole edilen *Klebsiella* türlerinin örneklere göre sayısal ve yüzde dağılımları

Örnekler	İzole edilen <i>Klebsiella</i> sayısı	<i>K.pneumoniae</i>		<i>K.oxytoca</i>	
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Kıyma	15	6	40	9	60
Kuşbaşı	11	6	55	5	45
Tavuk But	12	3	25	9	75
Tavuk Göğüs	7	6	86	1	14
Toplam	45	21	47	24	53

Örneklerden selektif besiyeri kullanılarak ve koloni morfolojilerine göre izole edilen *Klebsiella* bakterilerinin doğrulanması ve tür düzeyinde identifikasyonu biyokimyasal yöntemler kullanılarak yapılmıştır. IMVIC testleri ve laktoz fermantasyon testi kullanılarak *Klebsiella* türlerinin adlandırılması yapılmıştır. Elde edilen izolatların biyokimyasal test sonuçları Çizelge 4.3’te görülmektedir.

Çizelge 4.3. *Klebsiella* izolatlarının tür ayrımında kullanılan biyokimyasal testler ve tanımlanan türler

Kaynak	İzolat No.	İndol	MR	VP	Sitrat	Laktoz	Üreaz	Tanımlanan tür
Kıyma	KY2/3	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	KY3/3	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	KY4/4	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	KY5/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	KY8/3	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	KY9/1	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	KY9/2	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	KY10/2	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	KY11/1	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	KY12/3	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	KY13/2	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	KY13/5	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	KY14/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	KY15/1	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	KY15/3	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
Kuşbaşı	K2/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	K3/1	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	K3/2	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	K7/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	K8/1	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	K8/3	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	K9/1	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	K11/1	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	K12/2	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	K13/1	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	K15/3	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
Tavuk Göğüs	G4/1	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	G5/2	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	G6/2	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	G10/1	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	G10/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	G13/3	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	G14/1	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
Tavuk But	B1/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	B2/1	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	B5/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	B6/3	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	B7/1	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	B9/3	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	B10/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	B11/1	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	B12/2	-	-	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>
	B14/1	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	B15/2	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>
	B15/3	+	-	+	+	+	+	<i>K.oxytoca</i>

4.2. Tür Tayini Yapılmış İzolatların Virülans Faktörlerinin Araştırılması

4.2.1. Tür tayini yapılmış izolatların siderofor üretimi

Örneklerden izolasyonları gerçekleştirilen iki *Klebsiella* türünün CAS (Chrome Azurol Sulphate) Agar kullanılarak Schwyn ve Neilands yöntemine göre [Schwyn and Neilands , 1987] araştırılan siderofor tayinlerinin sonuçları Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Örneklere göre *Klebsiella* türlerinin siderofor üretimleri

Örnekler	Tür	Siderofor(+)	Siderofor(-)
Kıyma	<i>K.pneumoniae</i>	4	2
	<i>K.oxytoca</i>	4	5
	Toplam	8	7
Kuşbaşı	<i>K.pneumoniae</i>	2	4
	<i>K.oxytoca</i>	2	3
	Toplam	4	7
Tavuk Göğüs	<i>K.pneumoniae</i>	3	3
	<i>K.oxytoca</i>	-	1
	Toplam	3	4
Tavuk But	<i>K.pneumoniae</i>	2	1
	<i>K.oxytoca</i>	3	6
	Toplam	5	7
Toplam	45	20	25

Çizelge 4.4 'te görüldüğü üzere kıymadan izole edilen 15 *Klebsiella* türünden 8' i (%53) siderofor üretirken 7 'si (%37) üretmemektedir. Kuşbaşıdan izole edilen 11 *Klebsiella* türünden 4 'ü (%36) siderofor üretirken 7 'si (%64) üretmemektedir.

Çizelge 4.5. *Klebsiella* izolatlarının siderofor üretimleri.

Tür	İzolat No.	Siderofor(+)	Siderofor(-)
<i>K.pneumoniae</i>	KY2/3	+	
	KY8/3		-
	KY9/2	+	
	KY10/2	+	
	KY13/2	+	
	KY15/1		-
	K3/2		-
	K8/1	+	
	K11/1		-
	K12/2	+	
	K13/1		-
	K15/3		-
	G4/1		-
	G5/2		-
	G6/2	+	
	G10/1		-
	G13/3	+	
	G14/1	+	
	B2/1	+	
	B9/3	+	
<i>K.oxytoca</i>	B12/2		-
	KY3/3		-
	KY4/4		-
	KY5/2		-
	KY9/1	+	
	KY11/1	+	
	KY12/3	+	
	KY13/5	+	
	KY14/2		-
	KY15/3		-
	K2/2	+	
	K3/1	+	
	K7/2		-
	K8/3		-
	K9/1		-
	G10/2		-
	B1/2		-
	B5/2		-
	B6/3	+	
	B7/1		-
	B10/2		-
	B11/1		-
	B14/1	+	
	B15/2	+	
	B15/3		-
Toplam	45	20	25

4.2.2. Tür Tayini yapılmış izolatların serum dirençlikleri

Örneklerden izole edilen *Klebsiella* türlerinin serum dirençlikleri Sharma yöntemine göre araştırılmış[Sharma and Fatma , 1998] ve sonuçlar dirençli, orta duyarlı ve duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Sharma yöntemine göre yapılan serum dirençlikleri sonuçları Çizelge 4.6’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Örneklere göre *Klebsiella* türlerinin serum dirençlilikleri

Örnekler	Tür	İnsan Serumuna Karşı	
		Duyarlı	Dirençli
Kıyma	<i>K.pneumoniae</i>	2	4
	<i>K.oxytoca</i>	6	3
	Toplam	8	7
Kuşbaşı	<i>K.pneumoniae</i>	4	2
	<i>K.oxytoca</i>	3	2
	Toplam	7	4
Tavuk Göğüs	<i>K.pneumoniae</i>	4	2
	<i>K.oxytoca</i>	1	-
	Toplam	5	2
Tavuk But	<i>K.pneumoniae</i>	2	1
	<i>K.oxytoca</i>	6	3
	Toplam	8	4
Toplam	45	28	17

Not: Orta-duyarlı suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 4.6’da ifade edilen bulgulara göre kıymadan izole edilen ve çalışma kapsamına alınan 15 *Klebsiella* türünden 7’si (%47) insan serumuna dirençli diğerleri ise duyarlı bulunmuştur. Kuşbaşıdan izole edilen 11 *Klebsiella* türünden

Çizelge 4.7. *Klebsiella* izolatlarının serum dirençlilikleri

Tür	İzolat No.	Dirençli	Orta Duvarlı	Duvarlı
<i>K.pneumoniae</i>	KY2/3	+		
	KY8/3	+		
	KY9/2			+
	KY10/2		+	
	KY13/2	+		
	KY15/1			+
	K3/2		+	
	K8/1			+
	K11/1			+
	K12/2		+	
	K13/1			+
	K15/3			+
	G4/1		+	
	G5/2	+		
	G6/2			+
	G10/1			+
	G13/3			+
	G14/1			+
	B2/1	+		
	B9/3			+
	B12/2			+
<i>K.oxytoca</i>	KY3/3			+
	KY4/4			+
	KY5/2		+	
	KY9/1		+	
	KY11/1			+
	KY12/3			+
	KY13/5	+		
	KY14/2			+
	KY15/3			+
	K2/2	+		
	K3/1			+
	K7/2		+	
	K8/3			+
	K9/1			+
	G10/2			+
	B1/2			+
	B5/2			+
	B6/3		+	
	B7/1	+		
	B10/2	+		
	B11/1			+
	B14/1			+
	B15/2			+
	B15/3			+
Toplam	45	9	8	28

4.2.3. Tür tayini yapılmış izolatların hemolitik aktivitesi

Adlandırılmaları yapılan *Klebsiella* türlerinin %5'lik koyun kanlı agara ekimleri sonucu tayin edilen hemolitik aktiviteleri Çizelge 4.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. Kaynaklara göre *Klebsiella* türlerinin hemolitik aktiviteleri

Örnekler	Tür	Hemoliz(+)	Hemoliz(-)
Kıyma	<i>K.pneumoniae</i>	5	1
	<i>K.oxytoca</i>	5	4
	Toplam	10	5
Kuşbaşı	<i>K.pneumoniae</i>	4	2
	<i>K.oxytoca</i>	4	1
	Toplam	8	3
Tavuk Göğüs	<i>K.pneumoniae</i>	3	3
	<i>K.oxytoca</i>	-	1
	Toplam	3	4
Tavuk But	<i>K.pneumoniae</i>	2	1
	<i>K.oxytoca</i>	7	2
	Toplam	9	3
Toplam	45	30	15

Tabloya göre kıymadan izole edilen ve çalışma kapsamına alınan 15 *Klebsiella* türünden 10'u (%67) hemolitik aktivite gösterirken 5'i (%33) göstermemiştir. Kuşbaşından izole edilen 11 *Klebsiella* türünden 8'i (%73) hemolitik aktivite gösterirken 3'ü (%27) göstermemiştir. Diğer yandan tavuk göğüsten izole edilen 7 *Klebsiella* türünden 3'ü (%43) hemolitik aktivite gösterirken 4'ü(%57)

Çizelge 4.9. *Klebsiella* izolatlarının hemolitik aktiviteleri

Tür	İzolat No.	Hemoliz(+)	Hemoliz(-)
<i>K.pneumoniae</i>	KY2/3	+	
	KY8/3	+	
	KY9/2	+	
	KY10/2	+	
	KY13/2		-
	KY15/1	+	
	K3/2	+	
	K8/1		-
	K11/1	+	
	K12/2	+	
	K13/1	+	
	K15/3		-
	G4/1	+	
	G5/2	+	
	G6/2	+	
	G10/1		-
	G13/3		-
	G14/1		-
	B2/1	+	
	B9/3	+	
	B12/2		-
<i>K.oxytoca</i>	KY33		-
	KY4/4		-
	KY5/2		-
	KY9/1	+	
	KY11/1	+	
	KY12/3	+	
	KY13/5	+	
	KY14/2	+	
	KY15/3		-
	K2/2	+	
	K3/1	+	
	K7/2	+	
	K8/3	+	
	K9/1		-
	G10/2		-
	B1/2	+	
	B5/2	+	
	B6/3		-
	B7/1	+	
	B10/2	+	
	B11/1	+	
	B14/1	+	
	B15/2	+	
	B15/3		-
Toplam	45	30	15

Çizelge 4.13. Örneklerle göre *Klebsiella* türlerinin ESBL üretimleri

Örnekler	Tür	ESBL(+)	ESBL(-)
Kıyma	<i>K.pneumoniae</i>	3	3
	<i>K.oxytoca</i>	2	7
	Toplam	5	10
Kuşbaşı	<i>K.pneumoniae</i>	1	5
	<i>K.oxytoca</i>	1	4
	Toplam	2	9
Tavuk Göğüs	<i>K.pneumoniae</i>	3	3
	<i>K.oxytoca</i>	-	1
	Toplam	3	4
Tavuk But	<i>K.pneumoniae</i>	1	2
	<i>K.oxytoca</i>	2	7
	Toplam	3	9
Toplam	45	13	32

Çizelge 4.13'te verilen bulgulara göre kıymadan izole edilen 15 *Klebsiella* türünden 5'i (% 33) ESBL(+) olarak, 10'u (%67) ESBL(-) olarak bulunmuştur. Kuşbaşıdan izole edilen 11 *Klebsiella* türünden 2'si (%18) ESBL(+) , 9'u (%72) ise ESBL(-) olarak bulunmuştur. Tavuk göğüsten izole edilen 7 *Klebsiella* türünün 3'ü (%43) ESBL(+) iken 4'ü (%57) ESBL(-) tir. Tavuk buttan izole edilen 12 *Klebsiella* türünden 3'ü (%25) ESBL(+), 9'u ise (% 75) ESBL(-) olarak tayin edilmiştir.

Çizelge 4.14. *Klebsiella* izolatlarının ESBL tayinleri

Tür	İzolat No	ESBL(+)	ESBL(-)
<i>K.pneumoniae</i>	KY2/3		-
	KY8/3	+	
	KY9/2	+	
	KY10/2		-
	KY13/2	+	
	KY15/1		-
	K3/2		-
	K8/1		-
	K11/1	+	
	K12/2		-
	K13/1		-
	K15/3		-
	G4/1		-
	G5/2		-
	G6/2	+	
	G10/1		-
	G13/3	+	
	G14/1	+	
	B9/3	+	
	B12/2		-
	B2/1		-
<i>K.oxytoca</i>	KY4/4		-
	KY5/2		-
	KY9/1	+	
	KY11/1	+	
	KY12/3		-
	KY13/5		-
	KY3/3		-
	KY14/2		-
	KY15/3		-
	K2/2		-
	K3/1	+	
	K7/2		-
	K8/3		-
	K9/1		-
	G10/2		-
	B1/2		-
	B5/2	+	
	B6/3		-
	B7/1		-
	B10/2		-
	B11/1		-
	B14/1	+	
	B15/2		-
	B15/3		-
Toplam	45	13	32

4.3.2. Tür tayini yapılmış izolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

İzole edilen suşların antibiyotik duyarlılık testleri için Bioanalyse® antimikrobiyal duyarlılık diskleri kullanılmıştır. Meropenem 10 mcg (MEM), İmipenem 10 mcg (IPM), Amikasin 30 mcg (AK), Siprofloksasin 5 mcg (CIP), Gentamisin 30 mcg (CN), Sefotaksim 30 mcg (CTX), Seftazidim 30 mcg (CAZ), Trimetoprim/sulphamethoxazole 1,25/23,75 mcg (SXT), Sefepim 30 mcg (FEP), Ampisilin/sulbaktam 10/10 mcg (SAM), Aztreonam 30 mcg (ATM), Piperasilin/tazobaktam 100/10 mcg (TPZ), Ampisilin 10 mcg (AM) ve Amoksisilin 25 mcg (AX) disklerine duyarlılıkları CLSI M100-S19 önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.

Çizelge 4.15. *Enterobacteriaceae* familyası için kullanılan antibiyotiklerin zon çapları [CLSI M100-S19, 2009]

Antimikrobiyal Ajan	Disk İçeriği	Zon Çapı		
		R	I	S
Meropenem	10 mµ	≤13	14-15	≥16
İmipenem	10 mµ	≤13	14-15	≥16
Amikasin	30 mµ	≤14	15-16	≥17
Siprofloksasin	5 mµ	≤15	16-20	≥21
Gentamisin	10 mµ	≤12	13-14	≥15
Sefotaksim	30 mµ	≤14	15-22	≥23
Seftazidim	30 mµ	≤14	15-17	≥18
Trimetonprim/sulphamethoxazole	1,25/23,75mµ	≤10	11-15	≥16
Sefepim	30 mµ	≤14	15-17	≥18
Ampisilin/sulbaktam	10/10 mµ	≤11	12-14	≥15
Aztreonam	30 mµ	≤15	16-21	≥22
Piperasilin/tazobaktam	100/10 mµ	≤14	18-20	≥21
Ampisilin	10 mµ	≤13	14-16	≥17

Çizelge 4.16. *Klebsiella* türlerinin antibiyotiklere dirençliliği

Antibiyotikler	<i>Klebsiella</i> <i>spp.</i> (n=45)	<i>K.pneumoniae</i> (n=21)	<i>K.oxytoca</i> (n=24)
İmipenem	0(%0)	0(%0)	0(%0)
Meropenem	0(%0)	0(%0)	0(%0)
Amikasin	3(%7)	1(%5)	2(%8)
Siprofloksasin	7(%16)	4(%19)	3(%13)
Gentamisin	4(%9)	3(%14)	1(%4)
Sefotaksim	7(%16)	5(%24)	2(%8)
Seftazidim	11(%24)	8(%38)	3(%13)
Sefepim	12(%27)	10(%48)	2(%8)
Trimethoprim- Sulfamethoxazole	4(%9)	3(%14)	1(%4)
Ampisilin- Sulbactam	2(%4)	1(%5)	1(%4)
Aztreonam	18(%40)	12(%57)	6(%25)
Piperacilin- Tazobactam	2(%4)	1(%5)	1(%4)
Ampicilin	45(%100)	21(%100)	24(%100)
Amoksisilin	45(%100)	21(%100)	24(%100)

Çizelge 4.17. *K.pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları

<i>K.pneumoniae</i>	MEM	IPM	AK	CIP	CN	CTX	CAZ	SXT	FEP	SAM	ATM	TPZ	AM	AX
KY2.3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	D	D
KY8.3	H	H	H	H	H	D	O	O	D	H	O	H	D	D
KY9.2	H	H	H	H	H	H	O	H	O	H	O	H	D	D
KY10.2	H	H	H	H	O	H	H	H	H	O	H	H	D	D
KY13.2	H	H	O	O	H	D	O	H	O	H	O	H	D	D
KY15.1	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	O	H	D	D
K3.2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
K8.1	H	H	H	O	H	H	H	H	O	H	H	H	D	D
K11.1	H	H	H	H	H	H	O	H	O	H	H	H	D	D
K12.2	H	H	H	H	O	H	H	H	O	H	H	H	D	D
K13.1	H	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	D	D
K15.3	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	O	H	D	D
G4.1	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	D	D
G5.2	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H	O	H	D	D
G6.2	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	O	H	D	D
G10.1	H	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	D	D
G13.3	H	H	H	H	H	O	H	H	O	H	O	O	D	D
G14.1	H	H	H	H	H	H	O	H	O	H	O	H	D	D
B9.3	H	H	H	H	H	O	O	H	H	H	O	H	D	D
B12.2	H	H	H	O	H	H	H	H	O	H	H	H	D	D
B2.1	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	O	H	D	D

H: Hassas, O: Orta Duyarlı, D: Dirençli

Çizelge 4.18. *K.oxytoca* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları

<i>K.oxytoca</i>	MEM	IPM	AK	CIP	CN	CTX	CAZ	SXT	FEP	SAM	ATM	TPZ	AM	AX
K.Y4.4	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H	D	D
K.Y5.2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
K.Y9.1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	D	D
K.Y11.1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	D	D
K.Y12.3	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	D	D
K.Y13.5	H	H	H	O	H	H	H	O	H	H	H	H	D	D
K.Y3.3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
K.Y14.2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
K.Y15.3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
K2.2	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	D	D
K3.1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	D	D
K7.2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	O	D	D
K8.3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
K9.1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
G10.2	H	H	O	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
B1.2	H	H	O	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
B5.2	H	H	H	O	H	D	H	H	O	H	D	H	D	D
B6.3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D
B7.1	H	H	H	H	O	H	H	H	H	H	H	H	D	D
B10.2	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	H	H	D	D
B11.1	H	H	H	O	H	H	O	H	H	H	H	H	D	D
B14.1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	D	D
B15.2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	O	H	D	D
B15.3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D

H: Hassas, O: Orta Duyarlı, D: Dirençli

Çizelge 4.19. *Klebsiella* izolatlarının kaynaklarına ve türlerine göre antibiyotiklere dirençlilikleri

<i>K.pneum.</i>	İzolat Sayısı	MEM		IPM		AK		CIP		CN		CTX		CAZ		SXT		FEP		SAM		ATM		TPZ		AM		AX	
		D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%
Kıyma	6	0	0	0	0	1	17	1	17	2	33	2	33	3	50	1	17	3	50	1	17	5	83	0	0	6	100	6	100
Kuşbaşı	6	0	0	0	0	0	0	1	17	1	17	0	0	2	33	1	17	3	50	0	0	0	0	0	0	6	100	6	100
T.But	3	0	0	0	0	0	0	1	33	0	0	2	66	1	33	0	0	1	33	0	0	2	66	0	0	3	100	3	100
T.Göğüs	6	0	0	0	0	0	0	1	17	0	0	1	17	2	33	1	17	3	50	0	0	4	67	1	17	6	100	6	100

K.oxytoca	İzolat Sayısı	MEM		IPM		AK		CIP		CN		CTX		CAZ		SXT		FEP		SAM		ATM		TPZ		AM		AX	
		D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%	D	%
Kıyma	9	0	0	0	0	0	0	1	11	0	0	0	0	1	11	1	11	0	0	0	0	2	22	0	0	9	100	9	100
Kuşbaşı	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	20	0	0	0	0	1	20	1	20	1	20	5	100	5	100
T. But	9	0	0	0	0	1	11	2	22	1	11	1	11	0	0	0	0	2	22	0	0	3	33	0	0	9	100	9	100
T.Göğüs	1	0	0	0	0	1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Not: orta duyarlı suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir. (D: Dirençli)

MEM: Meropenem, IPM: Imipenem, AK: Amikasin, CIP: Siprofloksasin, CN: Gentamisin, CTX: Sefotaksim, CAZ: Sefotazidim, FEP: Sefepim, SXT: Trimetoprim/sulphamethoksol, SAM: Ampisilin/sulbaktam, ATM: Aztreonam, TPZ: Piperasilin/tazobaktam, AM: Ampisilin, AX: Amoksisilin

Geniş spektrumlu beta laktamaz üreten izolatların tamamının çoklu dirence sahip oldukları tespit edilmiştir. Çoklu direnç gösteren suşların direnç göstermiş oldukları antibiyotik türlerinin sayıları Çizelge 4.19’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.20. ESBL (+) *Klebsiella* izolatların çoklu dirençlilikleri

Tür	İzolat No	Dirençli Olduğu Antibiyotik Sayısı
<i>K.pneumoniae</i>	KY8.3	7
	KY9.2	5
	KY13.2	8
	K11.1	4
	G6.2	4
	G13.3	6
	G14.1	5
	B9.3	5
<i>K.oxytoca</i>	KY9.1	3
	KY11.1	3
	K3.1	3
	B5.2	6
	B14.1	3

*Orta duyarlı suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 4.21. *Klebsiella* türlerine ait izolatların bazı antibiyotikler için Direnç-ESBL üretimi ilişkisi

	<i>K.pneumoniae</i>				<i>K.oxytoca</i>			
	ESBL(+)		ESBL(-)		ESBL(+)		ESBL(-)	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
CTX	4	4	12	1	4	1	18	1
CAZ	2	6	11	2	5	-	16	3
FEP	1	7	10	3	4	1	18	1
ATM	1	7	8	5	-	5	18	1

Çizelge 4.22. ESBL (+) ve ESBL (-) *Klebsiella* türlerinin beta laktam antibiyotiklere karşı dirençlilik yüzdeleri

Antibiyotik	ESBL(+) Dirençli (%)	ESBL(-) Dirençli (%)
CTX	5(39)	2(6)
CAZ	6(46)	5(16)
FEP	8(62)	4(13)
ATM	12(92)	6(19)

Çizelge 4.22’de görülmekte olduğu üzere ESBL (+) izolatlarda söz konusu antibiyotiklere karşı dirençlilik oranları % 39 ve daha üzeri seviyelerdeyken, ESBL (-) izolatlarda bu dirençlilik oranları en fazla % 19 olarak tespit edilmiştir(Şekil 4. 10).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırma sonuçlarımıza göre çalışılan 60 tavuk ve et örneğinin 45'inde (% 75) *Klebsiella* izolatı elde edilmiştir. Bunun 15' i kıymadan (%33), 11'i kuşbaşıdan (%24), 12'si tavuk buttan (%27) ve 7'si de tavuk göğüsten (%16) izole edilmiştir. Bu izolatların 21'i (% 47) *K.pneumoniae* ve 24'ü (% 53) *K.oxytoca* 'dır.

Klebsiella'lar doğada çok yaygın olarak bulunurlar. Bu bakterilerin iki temel habitatı vardır. İlki atık sular, toprak ve bitkiler; ikincisi insanların ve bazı hayvanların mukozal yüzeyleridir. *Klebsiella*'lar insanlarda septisemi, pnömoni, üriner enfeksiyon ve yumuşak doku enfeksiyonlarına yol açan fırsatçı patojen bakterilerdir. Bütün bunlara ilaveten gıda güvenliği açısından risk kabul edilecek bakterilerdir [Podschn and Ullman, 1998].

Et ve et ürünleri insanların en temel besin maddelerinden biridir. Et ve tavuk örneklerinden yüksek sıklıkla *Klebsiella* izole ettiğimiz araştırma sonuçlarımız etlere bu bakterilerin çeşitli şekillerde kontamine olduğunu göstermektedir. Kontaminasyon kaynakları arasında etin kesiminden tüketiciye sunulma aşamasına kadar geçen sürede kullanılan aletler ve ekipman sayılabilir. Araştırma sonuçlarımıza paralel olarak etlerden ve diğer gıdalardan *Klebsiella* izolasyonuna ait çalışmalar bulunmaktadır.

Tekinşen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Ankara'da tüketime sunulan kıymaların bakteriyolojik kalitesini araştırmışlardır. İzolatların %25'inde *Klebsiella* tespit edilmiştir[Tekinşen ve ark., 1980].

2007 yılında organik tavuk, klasik tavuk ve hindi etinden *Enterobacteriaceae* familyasına ait 180 izolat elde edilmiştir. Organik tavuktan 4(%6,7), tavuktan 4 (%6,7) ve hindi etinden 15(%25) adet *Klebsiella* spp. bulunmuştur[Miranda ve ark., 2007].

Halkman ve Halkman pastörize süt, yoğurt, peynir, tereyağı, dondurma, salata , şarküteri ürünleri ve yaş meyve – sebze gibi çeşitli 500 gıda örneğinden izole ettikleri 308 izolatın 25'inin(%8,1) *K.pneumoniae* olduğunu saptamışlardır[Halkman ve Halkman, 2004].

Palmita tipi beyaz peynirlerde yapılan bir araştırmaya göre, örneklerin % 50'sinde *K. pneumoniae* saptanmıştır[Ocando ve ark.,1991].

Dülger ve Gücin Bursa'da satışa sunulan beyaz peynirlerden izole ettikleri 264 adet koliform suşunun 10'unu (%3,79) *K.aerogenes* ve 8'ini(%3,04) *K.pneumoniae* olarak saptamışlardır[Dülger ve Gücin, 1999].

Yakar'ın 2006 yılında süt, dondurma ve peynir örneklerinden izole ettiği *Klebsiella* izolatlarının % 53'ü *K.pneumoniae* , % 11 *K.oxytoca* ve % 7'si ise *K.rhinoscleromatis* 'dir[Yakar, 2006].

Altun ve arkadaşları 2002 yılında Ankara'da satılan çiğ sütler üzerine yaptıkları araştırmada *Klebsiella* izolatlarının oranının % 41,3 olarak belirtmişlerdir[Altun ve ark., 2002].

Wessels ve arkadaşları (1988) süt ve süt ürünlerinden izole edilen Enterobacteriaceae üyesi türlerden en sık rastlanılanlardan birinin *Klebsiella oxytoca* olduğunu belirtmişlerdir [Wessels ve ark.,1988].

Elazığ'da tüketime sunulan kaymaklı ve meyve aromalı dondurmalarda koliform bakteriler izole edilmiştir. Kaymaklı dondurmalarından izole edilen 186 suşun 20'sinde(%10,75) , meyve aromalı dondurmalarından izole edilen 446 suşun 57'sinde(%12,78) *Klebsiella oxytoca* tespit edilmiştir[Patır ve ark., 2005].

Hood ve ark. istiridye ve deniz tarağından izole ettiği *E. coli* olmayan fekal koliformlardan yaygın olarak *Klebsiella* türlerini tanımlamış, bunların %80 kadarının *K. pneumoniae* olduğunu belirlemişlerdir[Hood ve ark.,1983].

Klebsiella türü bakterilerin önemli virölans faktörlerinden biri olan siderofor yapıları ortamda bulunan demiri kullanabilme yeteneklerini sağlar. Konak organizmadaki demiri kullanabilmek patojen bakterilerin konaktaki gelişimi açısından kritik bir ihtiyaçtır. Demir, amino asit biyosentezi, sitrik asit döngüsü ve DNA sentezi gibi mikroorganizmaların gelişebilmesi için sürdürdükleri önemli proseslerde yer alır.

Yapılan çalışmamızda elde edilen, tür tanımlanması yapılmış 45 *Klebsiella* izolatının 20 adedi (% 44) siderofor üreticisi olarak tayin edilmiştir. *K.pneumoniae* % 53 'lük oranıyla *K.oxytoca*'dan daha fazla siderofor üretimi göstermiştir.

Kaleli ve ark. çeşitli klinik örneklerden soyutlanmış 120 *Klebsiella* izolatının 90'ını *K.pneumoniae* 30'unu *K.oxytoca* olarak bulmuşlardır. Toplam 120 *Klebsiella* suşunun %30,8'inin aerobaktin, %91,7'sini enterobaktin sentezlediğini bulmuşlardır[Kaleli ve ark., 2006].

Tekin (1998) yaptığı çalışmada İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi hastalarına ait idrar örneklerinden izole edilen 95 *K.pneumoniae* suşunun 93'ü (%97,8) , 29 *K.oxytoca* suşunun 28'inin (%96,5) siderofor ürettiğini tespit etmiştir[Tekin , 1998].

Üriner sistem infeksiyonlu hastalardan izole edilen 20'si *K.pneumoniae* ve 6'sı *K.oxytoca* olmak üzere toplam 26 suşun tamamında siderofor üretimi saptanmıştır. Suşların %54'ü enterobaktin, %8'i ise aerobaktin üretmektedir. Aerobaktin üreten suşların tümünün *K.pneumoniae* olduğu tespit edilmiştir[Anğ –Küçüker ve ark., 2002].

El-sukhon (2002) süt ve süt ürünlerinden izole ettiği 346 *Klebsiella* türünün 96'sında (% 27,7) siderofor üretimi tespit etmiştir [El-sukhon, 2002].

Konak organizmaların mikroorganizmalara karşı yaptıkları ilk savunma serumun bakterisit etkisi olmaktadır. Araştırmacılar insan ve hayvan serumlarının bakterisit etkisine karşı dirençliliğin belirli enfeksiyonların görülmesinde önemli olduğunu

belirtmişlerdir [Durack and Beeson , 1977; Olling, 1977]. Çoğunlukla Enterobacterler'in sebep olduğu üriner yol enfeksiyonlarında serum direncinin enfeksiyonun yeri ile de bağlantılı olduğu bilinmektedir [Gower and ark., 1972; Taylor and Koutsimanis,1975].

Çalışmamızda *Klebsiella* izolatlarının % 20'si seruma dirençli, % 18'i orta duyarlı ve % 62'si ise seruma duyarlı olarak bulunmuştur. Seruma en dirençli izolatlar % 53'lük oranı ile *K.pneumoniae* izolatlarıdır.

Tekin'in 1998 yılında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinde yaptığı çalışmasında 95 *K.pneumoniae* suşundan 62'si (%65,2) seruma dirençli, 30'u (%31,5) seruma orta duyarlı, 3'ü (%3,1) ise seruma duyarlı bulunmuştur. 29 *K.oxytoca* suşunun 21'i (%72,4) seruma dirençli, 8'i (%27,5) orta derecede duyarlı bulunmuş olup seruma duyarlı suş tespit edilmemiştir[Tekin, 1998].

Üropatojen *Klebsiella* suşlarıyla yapılan bir çalışmada 20 *K.pneumoniae* ve 6 *K.oxytoca* olmak üzere toplam 26 *Klebsiella* suşunun %53'ü serumun bakterisidal aktivitesine yüksek derecede dirençli bulmuştur. *K.pneumoniae* suşlarının %77'si, *K.oxytoca* suşlarında %50'si seruma dirençli bulunmuştur[Anğ –Küçüker ve ark., 2002].

Kaleli ve ark (2006) 90'ı *K.pneumoniae* ve 30'u *K.oxytoca* olmak üzere toplam 120 *Klebsiella* suşu üzerinde yaptığı çalışmada suşların %63,3'ünde serum direnci pozitif olarak saptamıştır[Kaleli ve ark , 2006].

Podschun ve ark. 2001 yılında yaptıkları çalışmalarında *K.oxytoca* suşlarında %53 , klinik *K.pneumoniae* suşlarında %25 serum direnci bildirmiştir[Podschun ve ark. 2001].

Ürdün'de yapılan bir çalışmada süt ve süt ürünlerinden izole edilen 346 *Klebsiella* türünün 103'ünde (% 29,7) serum direncine rastlamıştır [El-sukhon, 2002].

Klebsiella türü bakteriler hemolizinleri ile eritrositlerin parçalanarak hemoglobinin ortama salınmasını sağlarlar ve hemoglobini kullanırlar. Hemolizin varlığı bu sebeple bir virülans faktörü olarak düşünülür.

Çalışmamızda tür tanımlaması yapılmış 45 *Klebsiella* izolatının hemoliz aktivitelerinin değerlendirilmesi sonucunda 30 adedinin (% 67) hemoliz aktivitesi gösterdiği ve hemoliz oranı en yüksek olan türün % 53'lik oranla *K.oxytoca* olduğu görülmüştür.

El-sukhon (2002) süt ve süt ürünlerinden izole ettiği 346 *Klebsiella* türünden 19 tanesinin (% 5) hemolitik aktivite gösterdiğini tespit etmiştir [El-sukhon, 2002].

Yakar 2006 yılında süt ve süt ürünlerinden izole ettiği 43 *Klebsiella* örneğinin hemoliz aktivitelerinin değerlendirilmesi sonucunda 25 adedinin (% 11) hemoliz aktivitesi gösterdiğini ve hemoliz oranı en yüksek olan türün % 72'lik oranla *K.pneumoniae* olduğunu görmüştür. Bunu % 45 ile *K.oxytoca* ve % 29 ile *K.rhinoscleromatis* izlemektedir[Yakar, 2006].

Mikroorganizmalarda antibiyotiklere direncin ortaya çıkmasında ve giderek artmasındaki en önemli neden bilinçsiz antibiyotik kullanımı ve hastanelerdeki yoğun antibiyotik kullanımıdır. Bu nedenle hastanelerde ve özellikle hastane enfeksiyonlarının sık görüldüğü yoğun bakım ünitelerinde kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde ilgili hastanede sık izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi önemlidir[Fındık ve ark.,2001]. Direnç genleri enterik bakteriler arasında kolayca aktarılır. Bu sebeple bu suşların izlenmesi ve uygun antibiyotikler ile tedavileri önemlidir[Özkan ve ark., 2002].

Araştırmamızda *Klebsiella* suşlarının tamamı meropenem ve imipeneme % 100 duyarlı bulunmuşlardır. İzolatların amikasine % 7, siprofloksasine % 16, gentamisine % 9, sefotaksime % 16, seftazidime % 24, trimetoprim/sulphametoksazole % 9, sefepime % 27, ampisilin/ sulbaktama % 4, aztreonama % 40,

piperasilin/tazobaktama %4, ampisilin ve amoksisiline ise % 100 dirençli oldukları saptanmıştır.

Araştırma sonuçlarımıza göre *Klebsiellalar* için en etkili antibiyotikler meropenem ve imipenem olarak saptanırken, ampisilin ve amoksisilin bu bakterilere karşı etkisiz bulunmuştur.

2009 yılında Çankırı Devlet Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada izole edilen 91 *K.pneumoniae* suşunun antibiyotik direnç oranları amikasin %6, gentamisine %11, seftazidime %7, trimetoprim/sulphametoksazole %31, sefepime %7, aztreonam %8 ve ampisiline %74 olarak bulunmuştur. İmipenem %100'lük duyarlılıkla en etkin antibiyotik olarak tespit edilmiştir[Albayrak ve Kaya, 2009].

Çetinkaya ve arkadaşları(2005) Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'de klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının antibiyotik dirençliliklerini araştırmışlardır. Çalışmalarının neticesinde *Klebsiella* izolatlarının amikasin % 8, gentamisine % 20, sefotaksime ve seftazidime % 23, piperasiline % 69 direnç olduğunu, imipenem ve meropeneme ise % 100 duyarlı olduklarını saptamışlardır [Çetinkaya ve ark., 2005].

Çukurova Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada klinik örneklerden 47 *Klebsiella* izolatı için en yüksek direnç; % 85 oranı ile trimetoprim/sülfometaksazola karşı görülmüş, bunu sırasıyla seftriakson % 66, sefotaksim % 62, aztreonam % 60, seftazidim % 53, amoksisilin/klavulanat , piperasilin/tazobaktam , amikasin % 23 ve imipenem ise % 4 direnci izlemiştir[Orak, 2005].

Van Yüzüncü Yıl Üniversite Hastanesi'de 1999 yılında 210, 2001 yılında 247 adet *K.pneumoniae* izole edilmiş, antibiyotik direnç oranları karşılaştırılmıştır. Seftazidime %32-40, gentamisine %30-26 , sefotaksime %25-37, siprofloksasine %5-8, imipenem %5-4, amikasin %26-13 oranında direnç tespit edilmiştir[Güdücüoğlu ve ark., 2005].

2006 yılında süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri araştırılmıştır. Meropenem ve imipenem % 100 duyarlı bulunmuştur. İzolatların amikasinine % 23, siprofloksasine % 23, gentamisine % 30, sefotaksime % 33, seftazidime % 49, trimetoprim/sulphametoksazole % 28, sefepime % 240, ampisilin/ sulbaktam % 12, aztreonam % 42, piperasilin/tazobaktam %16, ampisilin ve amoksisiline ise % 100 dirençli oldukları saptanmıştır[Yakar, 2006].

Geniş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) enzimleri tüm dünyada özellikle *Enterobacteriaceae* familyasından sıklıkla tayin edilirler. Bu enzimler beta laktam antibiyotiklere karşı direnci sağlar. Antibiyotiğin beta laktam halkasının amid bağına inaktive ederler. Gram negatif bakterilerin büyük çoğunluğunda özellikle *Enterobacteriaceae* familyasında geniş spektrumlu beta laktamazlar bulunmaktadır [Bradford, 2001; Thomson ve ark.,1992]. Bu enzimler mikroorganizmalarda çoklu antibiyotik direncine neden olur. ESBL'ler geniş spektrumlu penisilinler, monobaktamlar ve dar spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilmektedir. Son yıllarda bu enzimler üçüncü kuşak sefalosporinleri ve azteronam da dirençli olarak saptanmaktadır. ESBL'ler klavulanik aside duyarlıdır ve bu şekilde rutin antibiyogramda tanımlanabilirler.

Çalışmamızda izole edilen *Klebsiella* türlerinden % 29'u geniş spektrumlu beta laktamaz üreticisi olarak bulunmuştur. İzole edilen *K.pneumoniae*'lerin % 38'i ve *K.oxytoca*'ların ise % 21'i ESBL üreticisi olarak saptanmışlardır.

Çankırı Devlet Hastanesi'ne gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarının ESBL oluşturma oranları araştırılmıştır. İzole edilen 91 *K.pneumoniae*'nin 20'sinde(%21,9) ESBL tespit edilmiştir[Albayrak ve Kaya, 2009].

Çetinkaya ve arkadaşları (2005) Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'de klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının antibiyotik dirençliliklerini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda 74 suşun 13'ünde (%18) ESBL pozitif bulmuşlardır[Çetinkaya ve ark., 2005].

Malatya Devlet Hastanesi'nde klinik örneklerden izole edilen 65 *Klebsiella spp.* suşunun 15'inde (% 23) ESBL pozitif olarak saptanmıştır[Iraz, 2009].

Hastane infeksiyonlarından izole edilen *K.pneumoniae* ve *E.coli* izolatlarının genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz sıklığını saptamak için yapılan çalışmada ESBL pozitiflik %13,2 olarak bulunmuştur. *K.pneumoniae*'de %42,6, *K.oxytoca* 'da ise %40 oranında ESBL bulunduğu bildirmiştir[Löker ve ark.,2001].

Anğ –Küçüker ve ark. yaptığı çalışmada 26 *Klebsiella* suşunda 1 tanesi *K.pneumoniae* ve 1 tanesinde *K.oxytoca* olmak üzere 2(%8) suşta ESBL pozitiflik saptamışlardır[Anğ –Küçüker ve ark., 2002].

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi'nde hastane ve toplum kaynaklı *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının ESBL pozitifliği araştırılmıştır. İzole edilen 154 *K.pneumoniae* suşunun 75'inde (%49) ESBL pozitiflik tespit edilmiştir[Güdücüoğlu ve ark, 2007].

Kaçmaz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada çeşitli klinik örneklerden hastane infeksiyonu olarak izole ettikleri 22 *K.pneumoniae* suşunun 17'sinde(%77) ve 14 *K.oxytoca* suşunun 9'unda(%64) ESBL pozitiflik tespit edilmiştir[Kaçmaz ve ark., 2005].

Işık (2007) Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bakteriyoloji Bölümüne çeşitli kliniklerden gelen yatan hastaların kan kültür örnekleri inceledi. İzole edilen toplam 102 *K.pneumoniae* suşundan 65' i (%63,7) ESBL pozitif olduğunu tespit etti[Işık , 2007].

Kan kültürlerinden 66'sı *K.pneumoniae* 1 tanesi de *K.oxytoca* olmak üzere 67 *Klebsiella* izole edilmiştir. 66 *K.pneumoniae* bakterisinin 19'unun (%28,4) geniş spektrumlu beta laktamaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. İzole edilen tek *K.oxytoca*'nın enzim aktivitesi negatiftir[Demirözü, 2007].

Araştırmamızda elde edilen sonuçlara göre sefotaksime ESBL negatif suşların % 6'sı, ESBL pozitif suşların % 39'u; seftazidim ESBL negatif suşların % 16'sı, ESBL pozitif suşların % 46'sı; sefepim ESBL negatif suşların % 13'ü, ESBL pozitif suşların % 62'si ve aztreonama ESBL negatif suşların % 19'u, ESBL pozitif suşların % 92'sinin direnç gösterdiği saptanmıştır. ESBL üretiminin üçüncü kuşak sefalosporinlere ve monobaktamlara direnci artırdığı tespit edilmiştir.

Çankırı Devlet Hastanesi'ne gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarının ESBL oluşturma oranları araştırılmıştır. İzole edilen 91 *K.pneumoniae*'nin antibiyotik dirençlilikleri de araştırılmıştır. ESBL pozitif suşlar aztreonama %30, seftazidime %25 sefepime %30 oranında dirençli olarak bulunmuştur[Albayrak ve Kaya, 2009].

Demirözü'nün yaptığı çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi ve S.B. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 01.01.2006-01.06.2006 tarihleri arasında başvuran, yatan hastalar ve poliklinik hastalarından kan örnekleri toplanmıştır. İzole edilen 67 *Klebsiella* türünün 19'unda ESBL pozitiflik bulunmuştur. ESBL pozitif suşlar %84 sefotaksime , %95 aztreonama , %89 seftriaksona, %84 seftazidime dirençli olarak bulunmuştur[Demirözü, 2007].

Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada klinik örneklerden *K.pneumoniae* izole edilmiştir. ESBL (+) suşların sefotaksime direnci %80,3, seftazidime direnci %95,8 ve aztreonama direnci %95,8 ; ESBL (-) suşların sefotaksime direnci %21,1, seftazidime direnci %12,3 ve aztreonama direnci %15,8 olarak belirlenmiştir[Nas, 1996].

Sonuç olarak *Klebsiella* türlerinin etlerden izolasyonu fekal kontaminasyonu, muhtemel bir çapraz kontaminasyonu, gıdanın hazırlanması sırasındaki kötü hijyen koşulları gibi bir ya da birkaç faktörden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bu durum etlerin yeterli süre ve ısıda pişirildikten sonra tüketilmesi gerektiğini gündeme getirmektedir. Araştırmamızda kaynak olarak da kullandığımız çeşitli çalışmalar çoğunlukla klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının virulans

özellikleri, antibiyotik dirençlilikleri ve ESBL üretimlerine dayanmaktadır. Ancak bizim çalışma sonuçlarımız klinik izolatlarla benzer şekilde et ve tavuklarda da seruma dirençli, siderofor, hemolizin ve ESBL üreten *Klebsiella* izolatlarının bulunabileceği yönündedir.

Sonuçlarımızdaki diğer önemli bir bulgu antibiyotiklere çoklu direnç gösteren *Klebsiella* türlerinin et ve tavuk örneklerinden izole edilmiş olmasıdır. *Klebsiella* izolatlarının tamamı ampisilin ve amoksisiline direnç göstermiş, ESBL üreten izolatlar da sefalosporin ve monobaktam antibiyotiklerine yüksek oranda dirençli bulunmuştur.

Gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından gıdalara kontaminasyon düzeyini en aza indireyecek tedbirlerin alınması gerekmektedir. Bunun için de gıda işletmelerinin ve bu işletmelerde çalışan insanlar için belirli standartların getirilmesi gerektiği düşüncesindeyiz. Bugün dünyadaki gelişmiş ülkelerin çoğunda uygulanan ve gıda güvenliğini esas alan HACCP(Hazard Analysis and Critical Control Points) sisteminin ülkemizde de gıda endüstrisinde yaygın hale getirilmesini vurgulamak gerekir.

KAYNAKLAR

- Akan, E., "Genel Mikrobiyoloji ve İmmunoloji", *Çukurova Üniversitesi Tıp Fak.Yayınları*, No:16, Adana (1992).
- Albesa, I., Barberis, L. I., Pajaro, M.C., Farnochi, M.C., Eraso, A.J., "Athilol activated hemolysin in gram negative bacteria", *Canadian Journal of Microbiology*, 31:297-300 (1985).
- Albayrak, N. ve Kaya, Ş. "Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *K.pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üretimleri ve antibiyotik direnç oranları" *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 39(1-2):16-21 (2009).
- Anğ-Küçükler, M., Küçükbaşmacı, Ö., Tekin, M., Akbulut, D., Büyükbaba-Boral, Ö., Anğ, Ö., "Üropatojen *Klebsiella* suşlarının serotiplendirilmesi, siderofor sentezi, serum direnci ve genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz tayini", *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 33:265-269 (2002).
- Aydoğan H, Başustaoğlu A. "Nozokomiyal patojen olarak *Klebsiella* türlerinin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri." *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* , 4:135-43 (2000).
- Baran, M., Soysal, H.F., Alver, A., Dündar, V., "Yenidoğan ünitesinde *Klebsiella pneumoniae* sepsisi ve epidemisi", *Klinik Dergisi*, Ankara, 7(2): 60-61 (1994).
- Barrett, T.J., Blake, P.A, "Epidemiological usefulness of changes in haemolytic activity of *Vibrio cholerae* biotype El Tor during the seventh pandemic", *Journal of Clinical Microbiology*, 13:126-129 (1981).
- Bilgehan H, "Klinik Mikrobiyoloji", *Barış Yayınları*, İzmir, (1993).
- Bilgehan, H., "Klinik Mikrobiyolojik Tanı", *Fakülteler Kitapevi*, İzmir, 428-429 (1995).
- Bonte, S., Joly, B., "Consequences of reduction of *Klebsiella pneumoniae* capsule expression on interaction of this bacterium with epithelial cells", *Infection and Immunity*, 67: 554-561 (1999).
- Bradford, P.A, "What's new in beta-lactamases?", *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 3:13-19 (2001).
- Brock, J. H., Williams, P. H., Lacey, J., Wooldridge, K. G., "Relative availability of transferrin-bound iron and cell-derived iron to aerobactin producing and enterobactin producing strains of *Escherichia coli* and to other microorganisms", *Infection and Immunity*, 59: 3185-3190 (1991).

Chida T., Nakaya R., Tsuji M., Shimizu N., Masuda G., Seo T., Sagara H., Matsubara Y., “İntestinal microflora of patients with antibiotic associated hemorrhagic colitis associated with *Klebsiella oxytoca* and *Clostridium difficile* enterotoxin”, **Kassenshogaku Zasshi**,60:608-615 (1986).

Claus, D., Berkeley, R.C.W., “Enterobacteriaceae: Bergey’s Manual of Systemic Bacteria”, **Williams and Wilkins, Baltimore** , 1151 (1986).

Clegg S., Gerlach, G.F., “Enterobacterial fimbriae”, **J.Bacteriology**, 169:1088-1090 (1987).

CLSI M100-S19 “Antibiyotik duyarlılık testleri için uygulama standartları; ondokuzuncu bilgi eki” **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti**, 29(3), (2009).

CLSI M02-A10 “Antibiyotik duyarlılık testleri için uygulama standartları; ondokuzuncu bilgi eki” **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti**, 29(3), (2009).

Çetinkaya Z., Çiftçi, İ.H., Aktepe, O.C., Şafak, B., Altındış, M., “Klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları”, **Ankem**, 19: 1-4 (2005).

Demir, N.,”Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu betalaktamaz (GSBL) üretimine katkıda bulunan çeşitli risk faktörlerinin araştırılması”,Uzmanlık tezi, **Sağlık Bakanlığı Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği**, İstanbul, 20, (2006).

Demiröz, Z.,”Kan kültürlerinden izole edilen *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *Escherichia coli* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzim varlığının araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 51, (2007).

Doebbeling B. N., R. P. Wenzel (ed.), “Epidemics : identification and management”, Prevention and control of nosocomial infections, 2nd ed.**The Williams and Wilkins Co.**, Baltimore, Md., 177-206 (1993).

Durack, D.T., Beeson, P.B., “Protective role of complement in experimental *Escherichia coli* Endocarditis”, **Infection and Immunity**,16: 213-217 (1977).

Dülger, B.,Gücin, F.,”Bursa’da satışa sunulan taze beyaz peynirlerden izole edilen koliform grubu bakterilerin tanılanması”,**Çev-Kor Dergisi**, 8(32):17-20 (1999).

Erdem, B., “Enterobacteriaceae”, Ustaçelebi S. (ed.): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, **Güneş Kitabevi**, Ankara, 472-514 (1999).

Erdem, E., “Bakterilerde sideroforlar ve diğer demir alım sistemleri”, **İnfeksiyon Dergisi** ,10:101(1996).

Fındık, D., Tuncer, İ., Ural, O., Arslan, U., “Hastane enfeksiyonu etkeni olan gram negative bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları”, *İnfeksiyon Dergisi*, 15(4): 489-493 (2001).

Firon, N., Ofek, I., Sharon, N., “Carbohydrate-binding sites of the Mannose-specific Fimbrial lectins of enterobacteriae”, *Infection and Immunity*, 43:1088-1090 (1984).

Fung, D. Y. ve Thompson, PH. D. L., “Effects of dried plums on suppression of growth of foodborne pathogens in liquid medium and ground meat” *Department of animal sciences and industry*, Kansas State University, Hall Manhattan, 656, 160 (2001).

Gower, P.E., Taylor, P.W., Koutsimanis, K.G., Roberts, A.P., “Serum bactericidal activity in patients with upper and lower urinary tract infections”, *Clin. Sci.*, 43: 13-22 (1972).

Griffiths, E., “The iron uptake systems of pathogenetic bacteria”, *Iron and Infection*, John Wiley & Sons Inc. New York, 69-137 (1987).

Griffiths, H., Chart, H., Stevenson, P., Doth, J. A. (ed.) “High affinity iron uptake systems and bacterial virulence”, Virulence mechanisms of bacterial pathogens, *Clinical Microbiology Review*, 11 (4): 589–603 (1998).

Göktan, D., “Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi, Cilt 1 Et Mikrobiyolojisi”, *Ege Üniversitesi Basımevi*, Bornova-İzmir, 26 (1990).

Güdücüoğlu, H., Baykal, S., İzci, H., Berktaş, M., “Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere direnci”, *Ankem Dergisi*, 21(3):155-160, (2007).

Güdücüoğlu, H., Bozkurt, H., Kurtoğlu, M.G., Antiç, Ş., Berktaş, M.,” 1999 ve 2001 Yıllarında İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranlarının Karşılaştırılması”, *Van Tıp Dergisi*, 12(2):156-159 (2005).

Halkman , A. K. ve Halkman, H. B.,”Gıdalarda *Escherichia Coli* olmayan fekal koliformlar üzerine bir araştırma” *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2(2):1-5, (2004).

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Willams ST, “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology ,9. baskı“, *William & Wilkins Co.*, Baltimore (1994).

Hood, M.A., Ness, G.E., Blake, N.J., “Relationship Among Fecal Coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* in Shellfish” *Appl. Environ Microbiol.* 45:122-126 (1983).

Horan, T., Culver, D., Jarvis, W., Emori, G., Banerjee, S., Martone, W., Thornsberry, C., “Pathogens causing nosocomial infections”, *Antimicrobic News.*, 5: 65-67 (1988).

Iraz, M., “Malatya Devlet Hastanesi’nde klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp.suşlarında geniş spektrumlu beta-laktamaz pozitifliği ile antibiyotik duyarlılığı”, *Ankem Dergisi*, 23(4):161-165 (2009).

Işık, F., Arslan, U., Tuncer, İ.,”Kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarından genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç yöntemin karşılaştırılması”, *Ankem Dergisi*, 21(3):165-170 (2007).

İnal, T., " Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü ", *Final Ofset*, İstanbul, 764 (1992).

Kaçmaz, B.,Çakır, F.Ö., Aksoy, A.,”Hastane kaynaklı infeksiyonlardanizole edilen *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması”, *Ankem Dergisi*, 19(3):125-129, (2005).

Kaleli, İ., Demir, M., Cevahir, N., Yıldırım, U., “*Klebsiella* suşlarında siderofor ve serum direncinin araştırılması”,*İnfeksiyon Dergisi*, 20(2):97-101, (2006).

Kandemir, U., Ersöz, G., Sahin, E., Kaya, A., “Hastanede yatarak tedavi gören hastalardan soyutlanan gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve indüklenabilir kromozomal beta–laktamaz sıklığı”, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 33: 207-211 (1999).

Kebha, K., Nissimov, L., “Relationships among capsular structure,phagocytosis and mouse virulence in *Klebsiella pneumoniae*”, *Infection and Immunity*, 63: 847-852 (1995).

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr,”Color Atlas of Textbook of Diagnostic Microbiology 4. baskı”, *Lippincott Company*,Philadelphia, 609-71 (1992).

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr,”Enterobacteriaceae Color Atlas of Textbook of Diagnostic Microbiology 5. baskı”, *Lippincott Company*,Philadelphia, 171 (1997).

Lillard, H. S., " The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses ", *Journal of Food Protection*, 53(3): 202-204 (1990).

Löker, K., Beşirbellioğlu B., Kısa, Ö., Aydoğan, H.,”Hastane infeksiyonlarından izole edilen *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* izolatlarında genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz sıklığının saptanması ve izoelektrik fokuslama yöntemi ile tiplendirilmesi”, *İnfeksiyon Dergisi*, 15(3):319-24, (2001).

Maslow J. N., Brecher S. M., Adams K. S., Durbin A., Loring S., Arbeit R. D., “Relationships between indole production and differentiation of *Klebsiella* species :

indole positive and negative isolates of *Klebsiella* determined to be clonal”, *Journal of Clinical Microbiology*, 31: 2000-2003 (1993).

Merck Microbiology Manual 12th edition (2004).

Merino, S., Comprubi, S., Alberti, S., Benedi, V. J., “Mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* Resistance to Complement Mediated Killing”, *Infection and Immunity*, 60: 2529-2535 (1992).

Minami J., Katayama S., Matsushita O., Sakamoto H., Okabe A., “Enterotoxigenic activity of *Klebsiella oxytoca* cytotoxin in rabbit intestinal loops”, *Infection and Immunity*, 62: 172-177 (1994).

Miranda, J.M., Guarddon, M., Vázquez, B.I., Fente, C.A., Barros-Velázquez, J., Cepeda, A., Franco, C.M., “Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae strains isolated from organic chicken, conventional chicken and conventional turkey meat: A comparative survey”, *Food Control*, 19, 412-416 (2008).

Moland, E. S., Christine C. S., Thomson K. S., “Can results obtained with commercially available microscan microdilution panels serve as an indicator of Beta-lactamase production among *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates with hidden resistance to expanded spectrum cephalosporins and aztreonam?”, *Journal of Clinical Microbiology*, 36(9): 2575-2579 (1999).

Nassif, X., Sansonetti, P.J., “Correlation of the virulence of *Klebsiella pneumoniae* K1 and K2 with the presence of a plasmid encoding aerobactin”, *Infection and Immunity*, 54:603-608 (1986).

Nas , Y.,” *Klebsiella pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında extended spektrumlu beta laktamaz direncinin araştırılması “, Uzmanlık tezi, *Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı*, Samsun, 4, (1996).

Nijssen S., Florijin, A., Bonten, M.U.M., Schmitz, F.J., Verhoef, J., Fluit, A.C., “Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates”, *International Journal Of Antimicrobial Agents*, 24(6): 585-591 (2004).

Ocando, A.F., Guíñerrez, D.U., Apaimo, Z.R. Saiaş, L.T., Basama, Y,” Microflora Isolated from Venezuelan "Palmita-Type" Cheese.” *J of Food Protection*, 54 (1 1), 856-860, (1991).

Ofek, I., Kebha, K., Athamna, A., Frankel, G., Wozniak, D. J., “Genetic exchange of determinants for capsular polysaccharide biosynthesis between *Klebsiella pneumoniae* strains expressing serotypes K2 and K21a”, *Infection and Immunity*, 61: 4208-4216, (1993).

Olling, S., "Sensitivity of gram negative bacilli to the serum bactericidal activity: a marker of the host-parasite relationship in acute and persisting infections", *Scand.J.Inf.Dis.Suppl.*, 10: 1-40, (1977).

Orak, F., "Hastane enfeksiyonuna neden olan gram negatif bakterilerde direnç paterni ve genişlemiş spektrumlu beta laktamaz tayini", Uzmanlık Tezi, *Çukurova Üni. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı*, Adana, 55 (2005).

Orskov, I., Fife-Asbury, M. A., "New Klebsiella capsular antigen, K82, and the deletion of five of those previously assigned", *International Journal Of Systematic Bacteriology*, 27: 386-387 (1977).

Orskov I., "Serotyping of Klebsiella", *Methods Microbiology*, 14: 143-164 (1984).

Özkan, Ç., Oldacay, M., Erdem, G., "Hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz sıklığı", *Ankem Dergisi*, 16 (1): 65-68 (2002).

Patır, B., Öksüztepe G.A., İlhak O.İ., "Elazığ'da tüketime sunulan kaymaklı ve meyve aromalı dondurmalarda koliform bakterilerin dağılımı", *Fırat Üniversitesi Sağlık Bil. Dergisi*, 20(1): 1-7 (2006).

Perry, R. D., San Clemente, C. L., "Siderophore synthesis in *Klebsiella pneumoniae* and *Shigella sonnei* during iron deficiency", *Journal of Bacteriology*, 140(3): 1129-1132 (1979).

Podschun, R., Heineken, P., Ullmann, U., Sonntag, H.G., "Comparative investigations of *Klebsiella* species of clinical origin: plasmid patterns, biochemical reactions, antibiotic resistances and serotypes", *Zbl. Bak.Mik.Hyg.Sen. A*, 262: 335-345 (1986).

Podschun, R., Ullman, U., "*Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors", *Clinical Microbiology Review*, October, 589-603 (1998).

Podschun, R., Pietsch, S., Holler, C., Ullmann, U., "Incidence of *Klebsiella* species in surface waters and their expression of virulence factors", *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 3325-3327 (2001).

Prodinger, W.M., Fille, M., Bauernfeind, A., Stemplinger, I., Amann, S., Pfauser, B., Lass-flörl, C., Dierich, M.P., "Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 laktamase: Parallel outbreaks due to multiple plasmid transfer", *Journal of Clinical Microbiology*, 34(3): 564-568 (1996).

El-Sukhon, SN., "Identification and characterization of *Klebsiellae* isolated from milk products in Jordan", *Food Control*, 20: 225–230 (2002).

Salyer, AA., Whitt, DD., "Bacterial Pathogenesis", *ASM Press*, Washington D.C. (1994).

Sahly, H., Podschun, R., Oeischlaeger, T.A., Greiwe, M., Parolls, H., "Capsule Impedes Adhesion to and Invasion of Epithelial Cells by *Klebsiella pneumoniae*", *Infection and Immunity*, 68: 6744-6749 (2000).

Schwyn, B., Neilands, J.B., "Universal Chemical Assay for the Detection and Determination of Siderophores", *Analytical Biochemistry*, 160: 47-56 (1987).

Sharma, S.K., Fatma, T., "A simple and rapid bactericidal assay and its evaluation in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*", *Journal of Mic.Meth.*, 39: 45-48 (1998).

Shokouhizadeh , S., "Üropatojen *Escherichia coli* suşlarında virülans faktörlerin araştırılması", *İ.Ü. İstanbul Tıp Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı* , Uzmanlık tezi , İstanbul, (1996).

Sipahi , A.B., "Enterobacteriaceae suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz ların (GSBL) saptanmasında kullanılan bazı yöntemlerin karşılaştırılması ve (GSBL) üretim sıklığının belirlenmesi", Tıpta uzmanlık tezi, *Gazi Üni. Tıp Fak.Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*, 4, (2006).

Slavik, M. F., Griffis, C., Li, Y. and Engler, P., " Effect of electrical stimulation on bacterial contamination of chicken legs ", *Journal of Food Protection*, 54(7):508-513 (1991).

Soyutemiz, E., "Et ve et ürünlerinde mikrobiyal bozulmalar", *Dünya Yayınları Gıda Dergisi* , 52-57, (2000).

Straus, D.C., "Production of an extracellular toxic complex by various strains of *Klebsiella pneumoniae*", *Infection and Immunity*, 55: 44-48 (1987).

Taylor, P.W., Koutsimanis, K.G., "Experimental *Escherichia coli* urinary infection in the rat", *Kidney International*, 8: 233-238, (1975).

Taylor, P.W., "Bactericidal and bacteriolytic activity of serum against gram-negative bacteria", *Microbiology Review*, 47:46-83, (1983).

Taylor, P.W., Roth J.A (Ed.), "Bacterial resistance to complement", Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogenesis, *American Society for Microbiology*, Washington DC, 107-120 (1988).

Tekin, M. "Üropatojen *Klebsiella* suşlarında tür tayini, siderofor tipleri, fimbriya tipleri ve serum direncinin araştırılması" Uzmanlık tezi, *İstanbul Üniversitesi Tıp*

Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı , İstanbul, 3, (1998).

Tekinşen , O. C., Yurtyeri, A., Mutluer, B. “Ankara’da Satılan Hazır Kıymaların Bakteriyolojik Kalitesi” **Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi.** 27 (1-2); 45-63 (1980).

Thomson, K.S., Sanders, C.C., Moland, E.S., “Detection of extended spectrum beta lactamases in members of the Enterobacteriaceae:comparison of the double-disk and three dimensional tests”, **Antimicrobial Agents Chemother.**, 36: 1877-1882 (1992).

Tunçel, G.; Tiryaki, G., “Çiğ köftelerin gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi” **Dünya Gıda Dergisi** , Aralık sayısı 56-61 (2001).

Tunçkanat, F., “Üriner sistem infeksiyonu patogeneğinde bakteriyel virulans faktörleri”, **Klinik Dergisi**, 6:3 (1993).

Ustaçelebi, Ş., Mutlu, G., İmir, T., Cengiz, A., Tümbay, E., Mete, Ö., “**Temel ve Klinik Mikrobiyoloji**” 91-109, 509-511 (1999).

Würker, M., Beuth, J., Ko HI., Przondo-Mordarska, Pulverer, G., “Type of fimbriation determines adherence of *Klebsiella* bacteria to human epithelial cells”, **Zbl Bakt**, 274:239 (1990).

Yakar , U., “Ankara’da tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinden *Klebsiella* türlerinin izolasyonu, bazı virülans faktörlerin belirlenmesi ve antibiyotik dirençlilikleri”, Yüksek lisans tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, (2006).

Yakuphanogulları, Y., Toraman, Z. A., Kizirgil, A., “Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten kan izolatu *Klebsiella* suşlarına karşı beta-laktamaz inhibitörü antibiyotiklerin in-vitro etkinliği”, **Aknem**, 18:109-112 (2004).

Yalçın, I.,”Bakteriyel infeksiyonlara karşı immunité”,**Klinik Dergisi**, 2:156 (1989).

İnternet: http://www.orduvho.org/et_beslenme.htm(2009).

İnternet:<http://www.veribaz.com/viewdoc.html?bakterilerin-patojenite-kriterleri-363772.html> (2009).

İnternet: BIOL 230 Lab Manual: *Klebsiella pneumoniae* on XLD Agar,<http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguides/unit2/innate/images/macpls.jpg>. (2009).

İnternet:The mechanism of siderophore, <http://www.chem.duke.edu/~alc/labgroup/sid.gif>, (2009).

İnternet:<http://www.microbelibrary.org> (2009).

Internet: “Chapter1- Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate”, *U.S. Food & Drug Administration*, <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/-bam-1.html>, (2009).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : YALÇIN, Emel
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 05.07.1979 Kayseri
Medeni hali : Evli
Telefon : 0312 2802948
e-mail : emel33@gmail.com

Eğitim

Derece

Eğitim Birimi

Mezuniyet Tarihi

Lisans

Cumhuriyet Üni.Biyoloji Bölümü

2002

Lise

Kayseri Kocasinan Süper Lisesi

1997

İş Deneyimi

Yıl

Yer

Görev

2008

Nüfus ve Vat. İşleri Gen.Müd.

VHKİ

Yabancı Dil

İngilizce