



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KPF-6 OLARAK İSİMLENDİRDİĞİMİZ *Klebsiella pneumoniae*'ye ETKİLİ
BAKTERİYOFAJIMIZIN KAN KÜLTÜRLERİNDE ÜREYEN *Klebsiella*
TÜRLERİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nazrın ABİZADE

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR**

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Mikrobiyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

Haziran, 2024

TEZ KABUL VE ONAYI

Nazrın ABIZADE tarafından, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR danışmanlığında hazırlanan " KPF-6 OLARAK İSİMLENDİRDİĞİMİZ Klebsiella pneumoniae'ye ETKİLİ BAKTERİYOFAJIMIZIN KAN KÜLTÜRLERİNDE ÜREYEN Klebsiella TÜRLERİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 14/06/2024 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

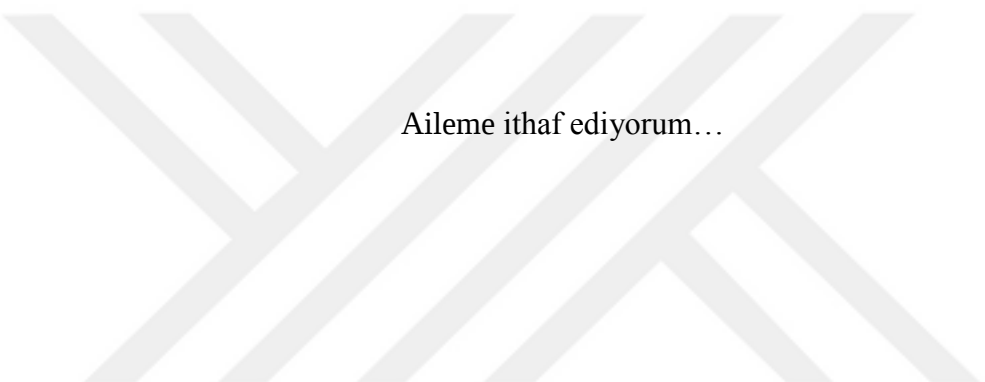
	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR	☒
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	Kabul
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI	☒
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	Kabul
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU	☒
	İstanbul Üniversitesi	Kabul
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ	☐
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	Kabul
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Ayşe BARIŞ	☐
	Sağlık bilimleri Üniversitesi Üniversitesi	Kabul
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☐ Ret

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Nazrın ABIZADE

(İmza)



Aileme ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

**KPF-6 OLARAK İSİMLENDİRDİĞİMİZ *Klebsiella pneumoniae*'ye ETKİLİ
BAKTERİYOFAJIMIZIN KAN KÜLTÜRLERİNDE ÜREYEN *Klebsiella*
TÜRLERİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca deneyimleri, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan, yakın ilgisi ve desteğinden dolayı, tez danışmanım saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR'a sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Eğitim ve öğretim sürecim boyunca kıymetli bilgilerini benimle paylaşan, samimi duygularıyla destekte bulunan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince bilgilerini esirgemeyen, yetişmemde emekleri geçen Anabilim Dalımızın saygıdeğer . hocaları Sayın Prof. Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK'e, Prof. Dr. Arif KAYGUSUZ'a, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ'ye, saygı ve rahmetle andığımız Prof. Dr. Kenan MİDİLLİ'ye, Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN'a, Prof. Dr. Sevgi ERGİN'e, Prof.Dr. Erdal POLAT'a, Doç. Dr. A. Suat SARIBAŞ'a,

Ömrünü çocuklarını yaşatmaya adanmış, benden mesafelerce uzak olsalar da sıcak sevgilerini, güvenlerini hiçbir zaman esirgemeyen, dünyayı önlerine sersem haklarını ödeyemeyeceğim, her zaman arkamda duran ,sevgileri ile beni ayakta tutan kalbimin atış sebebi değerli annem Gulnar Abızade ve babam Samir Abızade, küçük kalpleri ve sevgileriyle manevi desteklerini esirgemeyen kız kardeşim Nuray Abızade ve erkek kardeşim Ali Abızade'ye

Her zaman yanımda olan ve tez dönemimde gayret sarf eden ve ümitsizliğe düştüğümde, ümit aşıl原因an, yardımını ve desteğini unutmayacağım değerli arkadaşım MSc.Yelda İŞLEK'e

Değerli ekip arkadaşlarım MSc. Özge AKSU, Uzm. Dr .Tansu DÜNDAR'a, ve eğitim yılı sürecinde mutlu anılar biriktirdiğimiz arkadaşım Uzm. Dr. Ayşe CEYLAN KILINÇARSLAN'a,

Laboratuvarımızın tüm personel ekibine, yüksek lisans eğitimi ve tez döneminde desteklerini benden esirgemeyen, sevgili sekreterimiz Tuba Soysal Mumcu'ya teşekkür ederim.

Bu çalışmada herhangi bir kurumdan destek alınmamıştır.

Haziran 2024

Nazrın ABIZADE

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	iii
BEYAN	iv
BÜTÇE DESTEKLERİ	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	3
2.1. <i>KLEBSİELLA</i> spp.	3
2.1.1. Tarihçe.....	3
2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikleri	4
2.1.3. Virülans Faktörleri	5
2.1.4. Neden Olduğu Enfeksiyonlar	6
2.1.5. Direnç Durumu.....	7
2.2. BAKTERİYOFAJ.....	9
2.2.1. Tarihçe.....	9
2.2.2. Bakteriyofaj Yapısal Özellikleri ve Sınıflandırılması	10
2.2.3. Bakteriyofajların Morfolojisi ve Sınıflandırılması.....	10
2.2.4. Bakteriyofajların Yaşam Döngüsü	12
2.2.5. Bakteriyofaj Tedavisi	14
2.2.6. Antibiyotik ile Bakteriyofaj Tedavisinin Karşılaştırılması	15
3. YÖNTEM.....	16
3.1. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER	16
3.2. KULLANILAN BESİYERLERİ	17

3.2.1. Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması	17
3.3. Bakteri İzolatlarının Seçilmesi.....	17
3.4. BAKTERİ KÜLTÜRLERİNİN HAZIRLANMASI	18
3.5. BAKTERİYOFAJ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ.....	18
3.5.1. Tek Plak İzolasyonu ile Faj Saflaştırılması.....	19
3.5.2. Bakteriyofaj Konsantrasyonunun Hesaplanması	19
4. BULGULAR	21
4.1. İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI.....	21
4.2. KPF-6 BAKTERİYOFAJININ KONSANTRASYONU	27
4.3. KPF-6 BAKTERİYOFAJININ ETKİNLİĞİ.....	27
4.4. KPF-6 BAKTERİYOFAJIN ETKİSİZ KALDIĞI İZOLATLAR.....	30
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR.....	41
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	48
ETİK KURUL İZİN YAZISI	49
KURUM İZNİ YAZILARI.....	50
ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: <i>Klebsiella</i> spp.'nin Mac Conkey agarda koloni yapısı (Çalışmamızdan).....	5
Şekil 2.2: Bakteriyofajların elektron mikroskopundaki görüntüsü	10
Şekil 2.3: Bakteriyofajların yapısı	11
Şekil 2.4: Bakteriyofajların Bradley Sınıflandırması	11
Şekil 2.5: Bakteriyofajların Genomları ve Morfolojileri	12
Şekil 2.6: Fajların Yaşam Döngüleri	13
Şekil 3.1: Bakteriyofajın etkili olduğu bakteri ve oluşan faj plağı (sol), bakteriyofajın etkisiz olduğu bakteri (sağ) (Çalışmamızdan).....	19
Şekil 4.1: <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarının antibiyotik direnç durumları.....	26
Şekil 4.2: <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarının karbapenemlere ve sefalosporinlere direnç durumları.....	26
Şekil 4.3 : Saf faj plağının steril bistüri ucu ile alınması (Sol), ikili agar kaplama metodu oluşan faj plakları (Sağ).....	27
Şekil 4.4: KPF-6 fajının <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarına etkinliği.....	28
Şekil 4.5: KPF-6 fajının Karbapenem dirençli ve duyarlı <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp izolatlarının etkinliği.....	29
Şekil 4.6: KPF-6 fajının Sefalosporin dirençli <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarının etkinliği.....	30
Şekil 4.7: KPF-6 fajının <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarının etkinliği.....	30
Şekil 4.8: KPF-6 fajının karbapenem dirençli ve duyarlı <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp izolatlarına olan etkisizliği.....	31
Şekil 4.9: KPF-6 fajının sefalosporin dirençli <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp izolatlarına olan etkisizliği.....	32
Şekil 4.10: Spot test yöntemi ile KPF-6 fajının etkinlikleri (Çalışmamızdan).....	33

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1: <i>Klebsiella</i> izolatlarının (K1-K100) antibiyotik duyarlılıkları.....	22
Tablo 4.2: Çalışmaya alınan kan kültürlerinden izole edilen <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarının antibiyotik direnç profilleri.....	25
Tablo 4.3: <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarının karbapenemlere ve sefalosporinlere direnç durumları.....	26
Tablo 4.4: KPF-6 fajının <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarına etkinliği.....	27
Tablo 4.5: KPF-6'nın etkili olduğu <i>Klebsiella</i> izolatlarının karbapenem duyarlılığı.....	28
Tablo 4.6: KPF-6 fajının Sefalosporin dirençli <i>K. pneumoniae</i> ve <i>Klebsiella</i> spp. izolatlarına etkinliği.....	29
Tablo 4.7: KPF-6 fajının etkisiz kaldığı <i>Klebsiella</i> izolatları.....	31

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
°C	: Santigrat Derece
μ	: Mikro

Kisaltmalar	Açıklama
μL	: Mikrolitre
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EUCAST	: Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Testi Komitesi
GSBL	: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz
HKE	: Hastane Kaynaklı Enfeksiyon
KPF	: Klebsiella pneumoniae Fajı
mL	: Mililitre
pob	: Plak Oluşturan Birim
RNA	: Ribo Nükleik Asit
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSB	: Tryptic Soy Broth
USHIESA	: Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[KPF-6 OLARAK İSİMLENDİRDİĞİMİZ *Klebsiella pneumoniae*'ye ETKİLİ BAKTERİYOFAJIMIZIN KAN KÜLTÜRLERİNDE ÜREYEN *Klebsiella* TÜRLERİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI]

[Nazrın ABIZADE]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Mikrobiyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

[Danışman : Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR]

[Enterobacteriaceae ailesinin üyesi olan *Klebsiella* türleri, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan bir patojendir. Kullanımdaki çoğu antibakteriyel ajana karşı hızlı direnç geliştirme yetenekleri ile antibiyotiklerle elde edilen sağlık yararlarını tehdit etmektedir. Bu nedenle alternatif tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bakteriyofaj tedavisi, antibiyotiklere alternatif olarak dirençli-bakterilerle oluşan enfeksiyonları hafifletme potansiyeline sahiptir. Fajlar hedef aldığı bakteriyi enfekte ederek öldüren virüslerdir.

Çalışmamızda, önceki bir araştırmada atık sudan çok-ilaca-dirençli *K.pneumoniae*'ye özgü izole edilmiş ve KPF-6 olarak isimlendirilmiş bakteriyofajın, kan kültürü örneklerinde üremiş ve koleksiyona kaldırılmış olan 48 *K. pneumoniae* ve 52 *Klebsiella* spp. olmak üzere toplam 100 *Klebsiella* izolatlarına etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç için Spot test yöntemi kullanılmıştır.

Klebsiella izolatlarımızda karbapenemler için direnç oranı ortalama %67 ve sefalosporinler için ise ortalama %84 idi. Bu oranlar karbapenemlere direnç-*K.pneumoniae* izolatlarımızda ortalama %89,58 ve *Klebsiella* spp. izolatlarımızda ise, ortalama %46,15 idi. Sefalosporinlere dirençli-*K.pneumoniae* için ortalama %93.75, *Klebsiella* spp.'de ortalama %75 idi. İzolatlarımız diğer test edilen aminoglikozitler, trimetoprim-sulfametoksazol ve siprofloksasin için de yüksek direnç oranlarına sahipti. KPF-6 fajı, *Klebsiella* izolatlarına %74 oranında etkili bulundu. Etkinlik oranları *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp. izolatları için ise sırasıyla %79,16 ve %69,23 olarak tespit edildi. Bu oran Karbapenem dirençliler için %71,6 olarak

bulundu. Faj etkinliği karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında %68,75 ve *Klebsiella* spp. izolatlarında %31,25’idi. Sefalosporinlere dirençli *Klebsiella* izolatlarının %69,4’ne KPF-6 fajı etkili bulundu. Bu oran, sefalosporin dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında %60,34 ve *Klebsiella* spp. izolatlarında %39,65 olarak tespit edildi. KPF-6 fajı, *Klebsiella* izolatlarının %26’sına etkisiz kaldı. Faj etkisiz karbapenem dirençli izolatların 9’u (%47,36) *K. pneumoniae*, 10’u (%%52,63) *Klebsiella* spp.’idi.

K. pneumoniae suşunun çoklu-ilaca-dirençli klinik izolatlarını hedef alan yeni bir faj olan KPF-6’nın yüksek litik aktiviteye sahip olduğunu ve tedavi potansiyeli olabileceğini belirledik. Diğer çoklu-ilaca-dirençli *K. pneumoniae* gibi zorlu patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarla mücadelede bir alternatif tedavi stratejisi olarak umut verici bir yol sunmaktadır. |

Haziran 2024 , [67] sayfa.

Anahtar kelimeler: | Bakteriyofaj, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella* spp., Çok-İlaca-Direnç |

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

**INVESTIGATION OF THE EFFECTIVENESS OF OUR *Klebsiella pneumoniae*-
EFFECTIVE BACTERIOPHAGE, WHICH WE NAMED KPF-6, ON *Klebsiella*
SPECIES GROWN IN BLOOD CULTURES**

Nazrın ABIZADE

**İstanbul University-Cerrahpaşa
Institute of Graduate Studies
Department of Medical Microbiology
Microbiology Programme**

Supervisor : Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR

Klebsiella species, a member of the Enterobacteriaceae family, is a pathogen that causes community and hospital-acquired-infections. Their ability to develop rapid resistance to most antibacterial agents in use threatens the health benefits achieved with antibiotics. Therefore, alternative treatment methods are needed. Bacteriophages are viruses that infect and kill the bacteria they target. Phage therapy has potential to infections with resistant bacteria as an alternative to antibiotics.

In this study, effectiveness of KPF-6 specific to multi-drug-resistant *K.pneumoniae* isolated from wastewater in a previous study was investigated against total of 100 *Klebsiella* isolates, 48 of which were *K.pneumoniae* and 52 of were *Klebsiella* spp, isolated from blood culture samples. Spot test method was used for this purpose.

Klebsiella isolates, the resistance rate for carbapenems was 67% on average and for cephalosporins it was 84%. These rates are 89.58% on average in our carbapenem-resistance-*K.pneumoniae* isolates and *Klebsiella* spp isolates, the average was 46.15%. The average rate for cephalosporin-resistant *K.pneumoniae* was 93.75%, *Klebsiella* spp was 75%. Our isolates also had high resistance rates to other tested aminoglycosides, trimethoprim-sulfamethoxazole and ciprofloxacin. KPF-6 was found to be 74% effective against *Klebsiella* isolates. Efficacy rates for *K.pneumoniae* and *Klebsiella* spp., it was determined as 79.16% and 69.23% respectively. This rate was found 71.6% for carbapenem-resistant isolates. Phage activity was 68.75% in carbapenem-resistant-*K.pneumoniae* isolates and *Klebsiella* spp was 31.25% in

isolates. KPF-6 phage was found effective in 69.4% of *Klebsiella* isolates cephalosporin-resistant. This rate was 60.34% in cephalosporin-resistant-*K.pneumoniae* isolates 60.34%, *Klebsiella* spp was detected as 39.65%. KPF-6 was inactive against 26% of *Klebsiella* isolates. Of the phage-inactive carbapenem-resistant isolates, 9(47.36%) were *K.pneumoniae* and 10(52.63%) were *Klebsiella* spp.

We determined that KPF-6, targeting multidrug-resistant clinical isolates of *K.pneumoniae*, has high lytic-activity and may have therapeutic potential. It offers a promising avenue as an alternative treatment strategy to combat infections caused by other challenging pathogens such as multidrug-resistant-*K.pneumoniae*.

January 2024, [67] pages.

Keywords: [Bacteriophage, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella* spp., Multi-Drug-Resistance]



1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2024 yılında yayınladığı öncelikli patojenler listesinde, antimikrobiyallere direnç kazanan ve insan sağlığı açısından ciddi tehdit oluşturan mikroorganizmalar Kritik, Yüksek ve Orta olarak 3 gruba ayrılmıştır. Kritik grupta karbapenem dirençli Enterobacterales ve 3. Kuşak sefalosporin dirençli Enterobacterales ailesi üyeleri dikkat çekmektedir [1]. Bu ailenin bir üyesi olan *Klebsiella* türleri kapsüllü, basil şeklinde hareketsiz bir bakteridir. Hem doğada hem de insan ve hayvan mikrobiyotasında sıkça bulunan *Klebsiella* türleri çeşitli enfeksiyonlara neden olmasıyla önemli bir patojendir. Toplumdan edinilen enfeksiyonlara ek olarak hastane kaynaklı enfeksiyonlara da neden olmaktadır [2].

Klebsiella türleri arasında insanlarda enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen ve direnç geliştirme oranı en yüksek olan patojen *Klebsiella pneumoniae*'dir. *K. pneumoniae*'nin yaptığı enfeksiyonlar arasında; menenjit, sinüzit, idrar yolu enfeksiyonları, bronşit, pnömoni, beyin ve diğer dokularda apseler, safra yolu iltihapları ve sepsis vardır. Gram negatif enfeksiyonların tümünün yaklaşık üçte birinden sorumludur. Dünyada hastane kaynaklı patojenler arasında en yaygın ikinci patojendir [3].

Antimikrobiyal direnç, antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanımıyla birlikte küresel olarak çoklu ilaca dirençli (Multi Drug Resistance-MDR) bakterilerin ortaya çıkmasına ve yaygınlığının artmasına neden olmuştur. Bu durum tedavisi zor enfeksiyonların görülme sıklığının artmasına, hastanede kalış süresinin uzamasına, tıbbi maliyetlerin ve ölüm oranlarının artmasına yol açmıştır. Dünya çapında her yıl çoklu ilaca dirençli enfeksiyonlara bağlı olarak yaklaşık 700.000 ölüm bildirilmektedir; bir raporda 2050 yılına kadar yıllık ölüm sayısının 10 milyona kadar çıkacağı tahmin edilmektedir [4][5][6].

K. pneumoniae'de giderek yaygınlaşan karbapenem direnci mekanizmasına, en sık kullanılan antibiyotiklerdeki β -laktam yapısını parçalayabilen geniş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL'ler) aracılık etmektedir [7]. Bu nedenle, *K. pneumoniae* karbapenemaz (KPC) üreten bakterilerin enfeksiyonları ağır klinik seyirlidir ve sağlık sistemi için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu sorun büyümeye devam ettikçe, bu klinik patojenle mücadelede geleneksel antimikrobiyallere alternatif bir yol bulmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bakteriyofajlar (fajlar olarak da bilinir) yakın gelecekte antimikrobiyal direnci ele almak için bir seçenek olabilir. Fajlar, dünya çapında çeşitli doğal kaynaklarda (göl duları, toprak, büyükbaş hayvanların gastrointestinal sistemleri) mevcut olan virüslerdir [8]. Litik fajlar bakteriyel konakçıları enfekte eder ve bakteri hücrelerini lizis eder. Antibiyotiğe dirençli *K. pneumoniae*'nin hızlı gelişimiyle mücadelede çekici bir alternatif olarak ön plana çıkmaktadır [9].

Fajların kullanımına yönelik geçtiğimiz yıllarda ilgi artmıştır. *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* dahil olmak üzere pek çok MDR bakteriyel patojenlere özgü fajlar kullanıma sunulmuştur [10-12].

Bu çalışmalar, litik fajların patojenik bakterileri önlemek ve yok etmek için kullanılabileceğini ve bazı durumlarda antibakteriyel direncin neden olduğu mevcut tıbbi zorlukları hafifleterek ölümleri daha da azaltılabileceğini gösterdi. Litik fajların birkaç dikkate değer özelliği vardır. Birincisi, insan hücrelerini veya çevredeki mikrobiyotayı hedeflemeden, sadece patojen bakterileri spesifik olarak hedef alır ve bu nedenle insan sağlığı açısından güvenli kabul edilirler. Fajlar, bağışıklık sisteminin doğrudan tepkisini tetikleyebilse de, insan hücrelerine zarar verebileceğine dair hiçbir gösterge bulunmamaktadır. İkincisi, fajlar kendi kendini çoğaltabilir ve bu da konakçı bakterilerin ortadan kaldırılmasını sağlar, ancak bu süreç, hedeflenen bakterilerin yokluğunda kendi kendini sınırlar. Üçüncüsü, fajların özgüllüğü bakteriyel direncin ortaya çıkmasını kısıtlar ve fajların çapraz direnci tetikleme olasılığı geleneksel antibiyotiklere göre daha azdır. Son olarak, bazı fajlar, biyofilmleri parçalayabilen polisakkarit depolimerazlar içerir [4].

Yeni antimikrobiyal ajanları elde etmek ve üretmek maliyetli ve zahmetli olmasına karşın bakteriyofajlar doğada bol miktarda bulunur, izole etmesi kolay ve ucuzdur. Bu avantajlar, bakteriyofajları giderek artmakta olan MDR suşların tedavisinde umut vadeden bir çözüm olarak ön plana çıkarmaktadır.

Bu çalışmada, önceki araştırmamızda çevresel atık su örneğinden izole edilen MDR *K. pneumoniae* suşlarına etkili ve KPF6 [13] olarak isimlendirilen bakteriyofajın, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa – Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı - I ve Prof. Dr. Murat Dilmener Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı II'ye, çeşitli servis ve yoğun bakımlardan gelen kan kültürü örneklerinden izole edilmiş ve farklı direnç profiline sahip olan 100 *Klebsiella* suşuna etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. *KLEBSİELLA* spp.

2.1.1. Tarihçe

Enterobacteriaceae familyasına ait cinslerden biri olan *Klebsiella*, Gram negatif çubuk morfolojisinde bir bakteridir. Doğada yaygın olarak bulunan *Klebsiella* türleri, toprak, su, bitki yüzeyleri ve insan ve hayvan bağırsaklarında bulunabilir. *Klebsiella* türleri özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda(HKE) rol alan bakteriler olarak ön plana çıkmaktadır. Bu bakterilerin genellikle çevremizde yaygın olarak bulunan ve fakültatif anaerobik özellik gösteren saprofitik mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Bazı *Klebsiella* türleri, insan ve hayvanlarda hastalık yapabilen patojenik özelliklere sahiptir.

Yıllarca ‘Friedländer’in basili’ olarak adlandırılan *Klebsiella* cinsi, ismini 1882’ de Carl Friedlander’in pnömoni nedeniyle hayatını kaybeden hastaların akciğerlerinden bakteriyi izole etmesi ile tanımlanmıştır [14]. Friendlander Bu isimlendirmeden sonra 1887’ de Alman bir bakteriyolog olan Theodor A. Edwin Klebs’in anısına V. Trevisan tarafından ‘*Klebsiella*’ olarak adlandırılmıştır [15].

Taksonomik sınıflandırması;

Alem: Bacteria

Şube: Proteobacteria

Sınıf: Gammaproteobacteria

Takım: Enterobacteriales

Aile: Enterobacteriaceae

Cins: *Klebsiella*

Bu mikroorganizmanın patojenik özellikleri ve virulansı tanımlamanın sonrasında daha iyi anlaşıldı. *Klebsiella* türlerinin epidemiyolojisi ve klinik önemi üzerine yapılan araştırmalar, bu bakterinin hem toplum kaynaklı enfeksiyonlarda hem de HKE’larda önemli bir rol oynadığı ortaya koymuştur.

Günümüzde, *Klebsiella* cinsine ait 11 tür bulunduğu ve bu türlerin insan sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturabileceği bilinmektedir. Bazı türler insan sağlığı açısından hayati tehlike oluşturan türlerdir. Bunlar; *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. granulomatis*'dir. Diğer türler ise; *K. aerogenes*, *K. ornithinolytica*, *K. planticola*, *K. terrigena*, *K. grimonti*, *K. africanensis*, *K. variicola* ve *K. quasipneumoniae*'dir.

2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

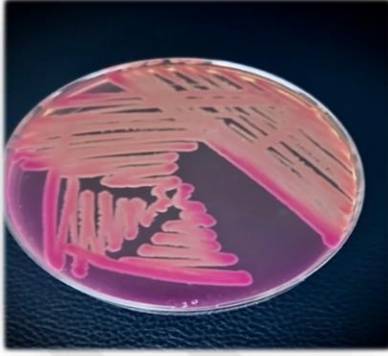
Klebsiella spp.; hareketli, polisakarit yapıda kapsüllü, sporsuz, oksidaz negatif olan fermenter Gram negatif bakterilerdir. Fakültatif anaerobik olan *Klebsiella* hem oksijen varlığında hem de oksijen yokluğunda üreyebilmektedir. Oda sıcaklığında haftalarca canlılığını sürdürebilir ve 4°C'de aylarca hayatta kalabilme yeteneğine sahiptirler. Enterobacteriaceae ailesinden olan *Klebsiella* spp. karmaşık antijenik yapıya sahiptir. Isıya dayanıklı ve ısıya dayanıksız olmak üzere antijenik yapıları mevcuttur. Isıya-dayanıklı Polisakarit yapısında 150'den fazla O (somatik) ve ısıya-dayanıksız 100'den fazla K(kapsül) antijenleri bulunmaktadır. *Klebsiella* türleri 37°C ve pH7'de iyi üreyen bakterilerdir. *Klebsiella* mukoid (M) tipte koloni yapısına sahiptir [16].

Klebsiella cinsi glukoz, laktoz ve sukrozu fermente eder ancak H₂S oluşturmaz. İndol testi ise türler arası değişiklik gösterir. *K. ozaenae* ve *K. rhinoscleromatis* non-fermantatif türlerdir ve laktozu fermente etmezler. Diğer Enterobacteriaceae ailesi üyelerinden Metil Kırmızısı testinin negatif olması ile ayrılır. Bu ailenin *Enterobacter* cinsi de Metil Kırmızısı testi negatiftir ve ayrımları hareket ile konulur. *Klebsiella* hareketli iken *Enterobacter* hareketsizdir. *Klebsiella* cinsi Voges Proskauer, Lizin dekarboksilaz, Sitrat ve Üreaz pozitif; DNaz ve oksidaz negatiftir.

Klebsiella türlerinin birbirinde ayırımında çeşitli biyokimyasal testler kullanılır. *K. pneumoniae*'nin indol testi negatif iken *K. oxytoca*'nın pozitifdir. Ayrıca *K. pneumoniae* Voges Proskauer testi pozitif, *K. oxytoca*'nın negatiftir. *K. granulomatis* ile *K. pneumoniae* ayırımında sadece biyokimyasal testler yeterli değildir ve daha spesifik testlere ihtiyaç vardır. Bu bağlamda ayrımları için moleküler yöntemler daha doğru sonuç vermektedir.

Doğada her yerde (kanalizasyon suyu, doğal su yatakları, toprak) bulunabilen *Klebsiella* cinsi insan ve hayvanların gastrointestinal sistem, mukozal yüzeylerinde ve nazofarenkslerinde de mevcut bir mikrobiyota üyesidir [16]. Bebeklerin bağırsak mikrobiyotasına yararlı bir etkide bulunan *Klebsiella* spp., yaşamın ileri dönemlerinde özellikle yaşlılıkta akciğerlere yayılarak

mortalitesi yüksek seyreden pnömoniye neden olabilmektedir [17]. Bireylerin gastrointestinal sistemlerinde en sık bulunan enterik bakterilerden ikincisi *Klebsiella* türleridir. Bir çalışmada bağırsakta bulunan *Klebsiella* 'ların *Escherichia coli* (*E.coli*)'nin ürettiği asidik metabolitleri kullanarak bağırsakların pH dengesini koruduğunu öne sürülmüştür [18].



Şekil 2.1: *Klebsiella* spp.'nin Mac Conkey agarda koloni yapısı (Çalışmamızdan).

2.1.3. Virülans Faktörleri

Klebsiella cinsinin konakta hastalık yapabilme, konak hücreye tutunabilmesi için çeşitli virülans faktörleri vardır [16]. Kapsül bunlardan biridir ve *Klebsiella* türlerinin çoğu, hücre dışı zarına bağlı şekilde kalın bir kapsül oluşturabilir. Bu kapsül sayesinde fagositozdan kaçır ayrıca immün sistem hücreleri tarafından tanınmasını önler. Bu sayede bağışıklık tepkisinden kaçınmalarını sağlar. Ayrıca kapsül sayesinde konak hücrelere daha kolay tutunur ve bu hücreleri enfekte eder. Kapsüllü ve kapsülsüz suşlar kıyaslandığında kapsüllü suşların yüksek mortaliteye sahip olduğu bilinmektedir.

Bakterilerin dış zarından bulunan Lipopolisakkarit (LPS) tabaka *Klebsiella* türlerinde endotoksin özelliğindedir. Enflamasyonun gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir role sahiptir. Bu LPS toksik şoka sebebiyet vermektedir [19] ayrıca Kompleman bileşenlerinin hücreye bağlanmamasını sağlamaktadır. Bu şekilde bakteriyi lizise karşı savunur [20].

Klebsiella 'lar hedef hücreye bağlanabilmelerini sağlayan fimbrialara sahiptirler. Tip 1 fimbria *K. pneumoniae* suşlarının yaklaşık olarak %90'ında bulunmaktadır [21]. Tip 3 fimbrialar sayesinde biyofilm oluşumu ve bakteri agregasyonu gibi yeteneklere de sahip olur. Bakteri FimH adheziyi sayesinde ise mukozal yüzeylere, epitel hücrelere bağlanabilmektedir [19]. Biyofilm oluşumu enfeksiyonların kronikleşmesine ve antimikrobiyal direncin artmasına neden olan önemli faktörlerden birisidir. Biyofilm içerisindeki bakteriler planktonik olan

bakterilere kıyasla, antibiyotiklere ve dezenfektanlara 100 kat daha dirençli hale gelmektedirler. Bu durum küresel sorun haline gelen antibiyotik direncini daha da büyük bir sorun haline getirmekte ve alternatif tedavi bulma çalışmalarına hız kazandırmaktadır.

Klebsiella spp.'nin sahip olduğu bir diğer virülans faktörü ise demir alım sistemleri (siderofor)dir. Bu sideroforlar bakterinin çoğalması için gerekli olan dış ortamda bulunan demiri spesifik reseptörler ile bağlayarak bakteri hücresinin içerisine alınmasını sağlar.

2.1.4. Neden Olduğu Enfeksiyonlar

Klebsiella türleri arasında enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen tür *Klebsiella pneumoniae*'dir ve HKE'larda en sık etkeni olan Gram negatif çomak, fırsatçı patojen olarak öne çıkmaktadır [3]. Özellikle Yoğun Bakım Ünitelerinde (YBÜ) yatmakta olan hastalarda, immun sistemi baskılanmış HIV pozitif, kemoterapi alan, splenektomili hastalarda ağır seyreden enfeksiyonlara neden olmaktadır. *Klebsiella* cinsi bakterilerin yaptığı enfeksiyonların çoğu hastaneye kaldırılmayı gerektirebilir. Fırsatçı bir patojen olarak *Klebsiella* spp esas olarak diyabet, kronik pulmoner obstrüksiyon, kronik kalp, böbrek ve neoplastik hastalıklar gibi ciddi altta yatan hastalıkları olan, hastanede yatan bağışıklık sistemi baskılanmış hastaları daha çok etkilemektedir.

Menenjit, sepsis ve peritonit gibi çeşitli enfeksiyonlara da neden olur. Özellikle kronik alkolik ve damar içi uyuşturucu kullanan insanların yara enfeksiyonlarında, idrar yolu enfeksiyonunda, pnömoni ve sepsis durumunda toplum kökenli bakteriyel enfeksiyonun önemli bir etkeni olarak bilinir.

Klebsiella türlerinin en sık neden olduğu hastalık pnömonidir ve etken olarakta *K. pneumoniae*'dir. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonlara neden olur. Pnömoni haricinde üst solunum yolu enfeksiyonlarına da neden olabilmektedir. Toplum kaynaklı *K. pneumoniae* kökenleri ile sinüzit ve faranjit gibi tablolar ile seyretmektedir. Toplum kökenli pnömoni olgularında taşikardi, kanlı balgam, ateş gibi belirtiler görülür ayrıca kişilerin boğazına yerleşerek toplumda insandan insana bulaşlara neden olur. Diyabet, malignite varlığı, KOAH, HIV, alkolizm gibi risk faktörleri toplum kökenli pnömonilerin mortalitesini arttıran faktörlerdendir [22]. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), hastane kökenli pnömoni olgularında en sık karşılaşılan etkindir [23]. Hastane kökenli pnömonilerde en sık rastlanan etken *Streptococcus pneumoniae*, ikincisi ise *K.pneumoniae*'dir ve antimikrobiyal direncin sık gözlemlendiği fırsatçı bir patojendir [24].

Klebsiella cinsi, idrar yolu enfeksiyonlarında da sık karşılaşılan bir patojendir. İdrar yolu ve mesane enflamasyonuna neden olur; sık sık idrar yapma, yanma ve karın ağrısı semptomlarıyla seyreder. Özellikle *K. pneumoniae* ile kontamine üriner kateterler nedeniyle sistit, piyelonefrit, böbrek apseleri ve perirenal apseler gibi klinik bulgular gözlemlenmiştir [19].

K. pneumoniae idrar yolu enfeksiyonu, pnömoni, sepsis gibi çeşitli enfeksiyon hastalıklarına neden olabilir iken *K. granulomatis* genital bölge ülserleri ve doku hasarına neden olur. *K. granulomatis*, donovanosise neden olur, cinsel yolla bulaşan enfeksiyona yol açar ve genital ülserasyon ile karakterizedir. En sık karşılaşılan donovanosis tipi ülserogranülomatözdür ve dokunulduğu anda kanayan, kırmızı ve hassas ülser tablosu ile karakterizedir. Vakaların neredeyse %90'ında genital bölge, %10'unda ise kasık bölgesi tutulmaktadır [25].

Klebsiella oxytoca'nın neden olduğu enfeksiyonların prevalansı gün geçtikçe artmakta ve %2-24 arasında değişmektedir. Hem yetişkinlerde hem de yenidoğanlarda HKE'lere neden olmaktadır. Sık olarak idrar ve solunum yolu enfeksiyonlarına neden olur, endokardit, kolit, organ apseleri ve cerrahi alan enfeksiyonları gibi enfeksiyonlara da neden olmaktadır [26].

2.1.5. Direnç Durumu

Klebsiella pneumoniae sağlıklı bireylerde mukozal yüzeylerde kolonize olur ve hastanede yatan hastalardaki tüm Gram-negatif enfeksiyonların üçte birinden sorumludur [3]. Hastaneden edinilen izolatlar, çoklu ilaç direnci (MDR) plazmitlerinin edinilmesi nedeniyle sıklıkla çoklu antibiyotiğe dirençlidir. *Klebsiella pneumoniae*, genişlemiş spektrumlu β -laktamazları (GSBL'ler) kodlayan plazmidleri barındıran en yaygın mikroorganizmalardan biridir.

SHV-1 enzimi varlığıyla *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*; Amoksisilin/Klavulanat, Tikarsillin ve Ampisilin gibi antimikrobiyallere doğal şekilde dirençlidir [19]. Üçüncü kuşak sefalosporinlerin kontrolsüz kullanımıyla 1983'te Almanya'da SHV-2 adı verilen yeni bir beta-laktamaz bulunmuştur. Ardından 1986'da Fransa'dan SHV-3 içeren bir suş bildirilmiştir [27]. Bu enzimler SHV-1'in mutasyona uğraması sonucunda oluşmuştur.

β -laktamazlar, akış proteinleri, dış zar proteinleri, gen replikasyon enzimleri, protein sentez kompleksleri ve transkriptazlar gibi çeşitli proteinlerdeki mutasyonlar da antibiyotik

direncine neden olur. Karbapenemleri hidrolize edebilen beta-laktamaz enzimleri ile karbapenemaz üreten kökenler penisilin ve sefalosporinleri hidrolize eder.

K. oxytoca ayrıca kromozomal β -laktamaz aşırı ekspresyonu nedeniyle birçok antibiyotiğe de dirençlidir. Bunun sonucunda, temosilin hariç tüm penisilinlere karşı oldukça dirençli, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson ve aztreonama dirençli, ancak GSBL hariç seftazidime duyarlı benzersiz bir anti-inflamatuvar ilaç elde edilir.

Klebsiella pneumoniae Karbapenemase(KPC) A sınıfındadır ve klinik olarak en önemli karbapenemazdır. Bakterinin sefalosporinler, penisilinler, aztreonam ve karbapenemlere karşı dirençli olmasını sağlar [28]. 1996'da Kuzey Karolina'da KPC-1, 1998'de Maryland'de KPC-2 keşfedilmiştir [29].

Tanımlanan ilk GSBL; TEM-1'dir, bu enzime yönelik seftazidim vb sefalosporinler geliştirilmiştir. 1985 yılında Fransa'da TEM-3 keşfedilmiş, HKE'lere neden olan suşlarda saptanmıştır [30]. *K. oxytoca* kromozomal beta-laktamaz aşırı ekspresyonu nedeniyle çoklu antibiyotiğe direnç geliştirir böylelikle neredeyse tüm penisilinlere karşı yüksek dirençli, seftriakson, aztreonam, sefuroksim ve sefotaksime dirençli hale gelir.

B sınıfı karbapenemazlar Zn^{2+} iyonları içerir ve 'metallo-beta-laktamazlar' da denir. VIM (kromozomal kodlanır), NDM (plazmid aracılı) ve IMP bu grupta yer alır. Bu enzimler aztreonamı hidrolize edemez. NDM ilk olarak Yeni Delhi-Hindistan'da *K. pneumoniae* suşunda keşfedilmiştir [31]. NDM-1 enzimi ilk defa 2011 senesinde ülkemizde tanımlanmıştır [32].

C sınıfı karbapenemazlar ise çoğu Enterobacteriaceae üyelerinde kromozomal olarak kodlanır ancak plazmid ile aktarılan çeşitleri de vardır (örneğin; CMY, ACT, DHA). Aktif bölgelerinde 'serin' bulunan D sınıfı karbapenemazlar ise oksasilini hidrolize eder. Bu nedenle 'oksasilinaz' ve 'OXA-tipi' de denmektedir [33]. 2001'de ilk olarak ülkemizden bildirilen OXA-48'in sadece ülkemizde görüldüğü düşünülmüş ancak Akdeniz ülkelerine de yayılmıştır [34].

Çoklu ilaç direncine sahip Gram negatif bakterilerin tedavisinde nörotoksisitesi yüksek olan Kolistin, kritik durumdaki hastaların tedavisinde kullanılmaya başlandı. Ancak sık kullanımından sonra kolistin dirençli *Acinetobacter spp.* ve *Pseudomonas spp.* bildirilmiştir. Kolistine karşı dirençli olan *K. pneumoniae* Avrupa, Kuzey Amerika, Güney Afrika dahil çeşitli

bölgelerden bildirilir iken en çok görülen ülke Yunanistan'dır [35]. Kolistin direnç geni olarak en sık bildirilen *mcr-1*'dir. Sadece *K. pneumoniae*'den izole edilip bildirilen genler ise; *mcr-3* ve *mcr-8*'dir [33].

Antibiyotik duyarlılığı bölgeye göre değiştiğinden, *Klebsiella* türlerinin antibiyotik duyarlılık modellerini anlamak ve ilaç direncinin hızla yayılmasını kontrol altına alacak önlemler almak önemlidir. Dirençli suşlar mevcut antibiyotiklerle kombinasyon tedavisiyle tedavi edilebilir. Ancak mevcut antibiyotiklere karşı direncin ortaya çıkmasını ve yayılmasını azaltmak için hastanelerde antibiyotik tüketiminin uygun şekilde yönetilmesi de önemlidir ayrıca hızla artan dirençle mücadelede alternatif tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır [36].

2.2. BAKTERİYOFAJ

2.2.1. Tarihçe

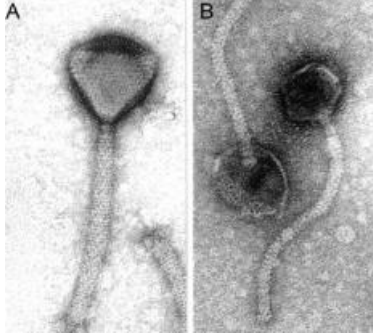
Bakteriyofajlar (fajlar) doğada en çok bulunan biyolojik topluluklardan biridir ve belirli hedef bakterileri enfekte edebilen bakteriyel virüsler olarak tanımlanır. Bakteriyofaj kelimesinin Yunanca karşılığı “bakteri yiyen”dir [37]. Fajlar, doğadaki bakterilerle simbiyotik ilişkiler kurar ve toprak, su, hava, insan ve diğer hayvanların bağırsakları dahil olmak üzere bakteriyel konakçıların yaşadığı her ortamda yaygındır.

Bakteriyofajların varlığı ilk kez 1896'da Ernest Hankin tarafından ortaya konuldu. Ganj ve Jumna Nehri sularında yüzen kişilerin kolera hastalığına yakalanmadığını farketti Bu sularında *Vibrio cholerae*'ya karşı aktivite gösteren ve bu bakteriyi öldüren bir maddeden söz etmiştir [38]. 2 yıl sonra ise Nikolay Gamaleya benzer gözlemi yapmıştır. Bu gözlemlerden sonra Frederick Twort bu bakteri öldürücü etkinliğin bir virüs olabileceğini ilk kez ortaya atan kişi olmuştur ancak hipotezini kanıtlanamamıştır [39].

Ancak bakteriyofajın tanımlayan ve isimlendiren kişi Felix d'Herelle'dir. 1917 yılında Pasteur Enstitüsü'ndeki çalışmaları ile bakterileri enfekte eden virüsleri tanımlamış, isimlendirmiştir ve dünyaya tanıtmıştır.

Bakteriyofajların temel yapısının henüz keşfedilemediği 20. yüzyılın başlarında, bu virüsün aktif veya canlı olup olmadığı ile ilgili sorular yanıtsızdı. Ernst Ruska'nın 1933'te elektron mikroskopunu icat etmiş ve 1940'da da Helmut Ruska, bakteriyofajları incelemiştir

[40]. Bakteriyofajları ‘Sperm şekilli’ olarak tanımlamıştır ve yapısı hakkındaki ilk bilgiyi vermiştir.



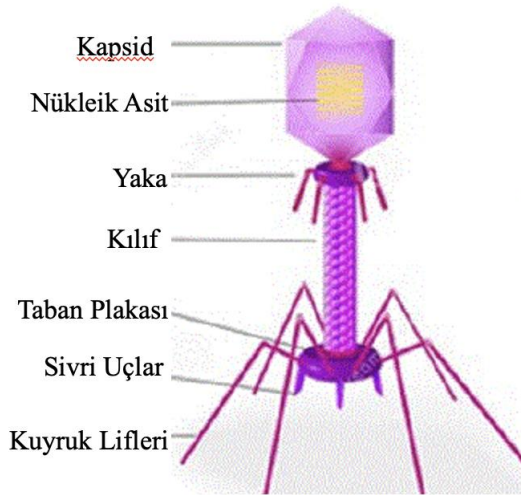
Şekil 2.2: Bakteriyofajların elektron mikroskopundaki görüntüsü [41].

2.2.2. Bakteriyofaj Yapısal Özellikleri ve Sınıflandırılması

Bakteriyofajlar, konak bakterilerin bulunduğu her yerde bulunabilir [42], konak varlığında canlılığını koruyup çoğalabilirler. Bu bağlamda bakteriyofajlar doğal su kaynakları (deniz, göl, tatlı su), lağım suları, toprak ve hayvanların bağırsaklarında bulundukları bilinmektedir[43,44].

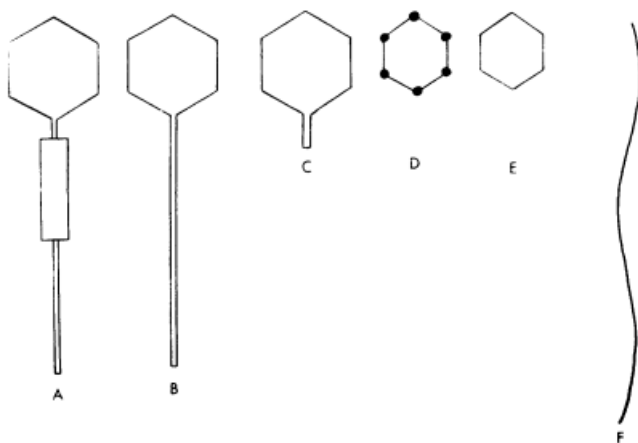
2.2.3. Bakteriyofajların Morfolojisi ve Sınıflandırılması

Bakteriyofajlar, genellikle 20 ila 200 nanometre boyutunda olup genetik materyali içeren baş, boyun ve kuyruk bölümlerinden oluşur. Baş bölgesi, nükleik asit moleküllerini içerir ve bir kapsid içerisindeki yapıdan oluşur. Kuyruk, fajın konak bakteriye tutunmasını ve genetik materyalinin bakteriye enjeksiyonunu sağlayan bir yapıdır. Bakteriyofajların neredeyse %96’lık kısmı kuyruğa sahiptir [45]. Fajın nükleik asidi, tek veya çift sarmallı DNA veya RNA’dır [37]. Kuyruklu fajların genetik materyali çift sarmallı DNA’dır. Bu nükleik asidi ‘kapsid’ olarak adlandırılan protein bir kabuk kaplar. Fajın temel bileşenlerini oluşturan bu yapı bakteriyel hücreleri enfekte etmelerini sağlar. Kapsidler çoğunlukla altıgen şeklindedir ve kapsomerlerden oluşur. Fajlar, bakterinin hücre duvarında bulunan spesifik reseptörlere kuyruk fibrilleri ile bağlanır. Daha sonra kuyrukları ile nükleik asitlerini bakteri hücresine enjekte eder.



Şekil 2.3: Bakteriyofajların yapısı [46].

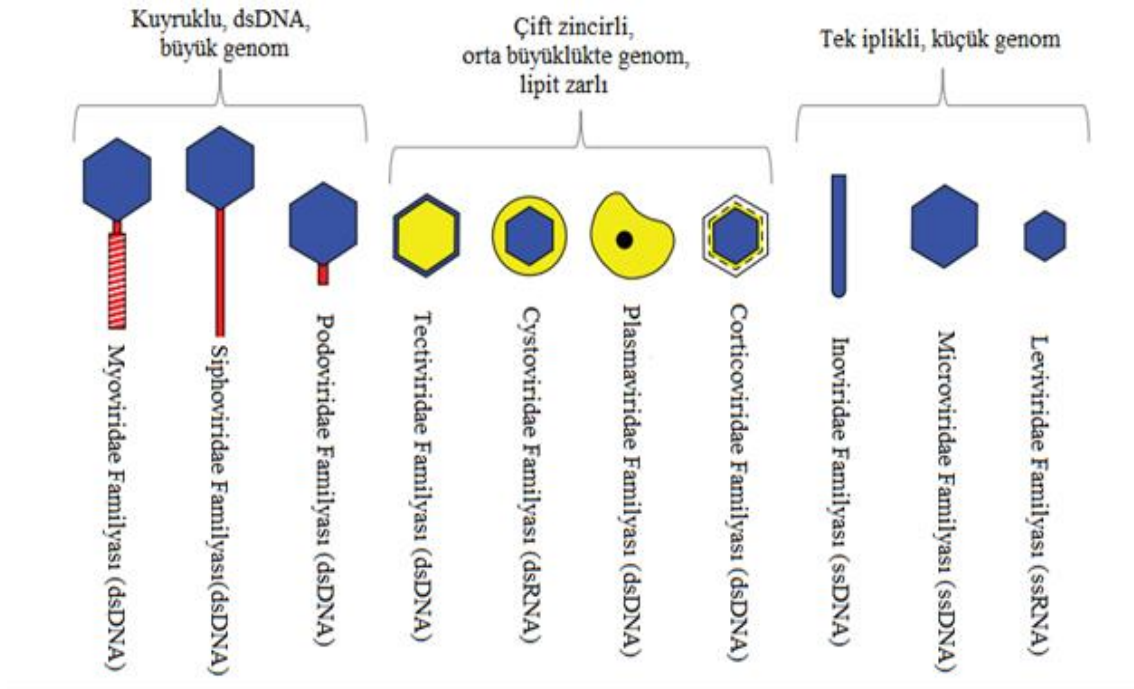
Avustralyalı bir mikrobiyolog olan Macfarlane Burnet bakteriyofajların sınıflandırılmasının öncülerindendir. Burnet 1937 senesinde fajların boyut ve fizikokimyasal farklılıklarını kanıtlamıştır [47]. Elektron mikroskopunun icadından sonra ise fajlar incelenerek morfolojik yapılarına göre klasifikasyon yapılması fikrini Holmes Ruska ilk olarak 1943 yılında ortaya atmıştır. Ardından 1947 yılında ise virüsleri 3 familyaya ayırarak; fajları 'Phagineae' familyasına koymuştur. Horne, Lwoff ve Tournier ise 1962 yılında bakteriyofajların sahip oldukları nükleik asitlere göre sınıflandırılması gerektiğini belirtmişlerdir. David Bradley ise 1967 senesinde bakteriyofajları baş-kuyruk özellikleri ve nükleik asit içeriklerine göre A'dan F'ye kadar altı gruba ayırmıştır [48].



Şekil 2.4: Bakteriyofajların Bradley Sınıflandırması [48].

1971 yılında Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi (International Committee on Taxonomy of Viruses-ICTV), çeşitli özelliklerine göre fajları yayınladığı raporda

sınıflandırmıştır. Bu raporda fajları kuyruklu ve dsDNA virüsleri, lipid zarlı çift sarmallı DNA ve RNA virüsleri, tek iplikli virüsler olarak ayırmıştır [49].



Şekil 2.5: Bakteriyofajların Genomları ve Morfolojileri [50].

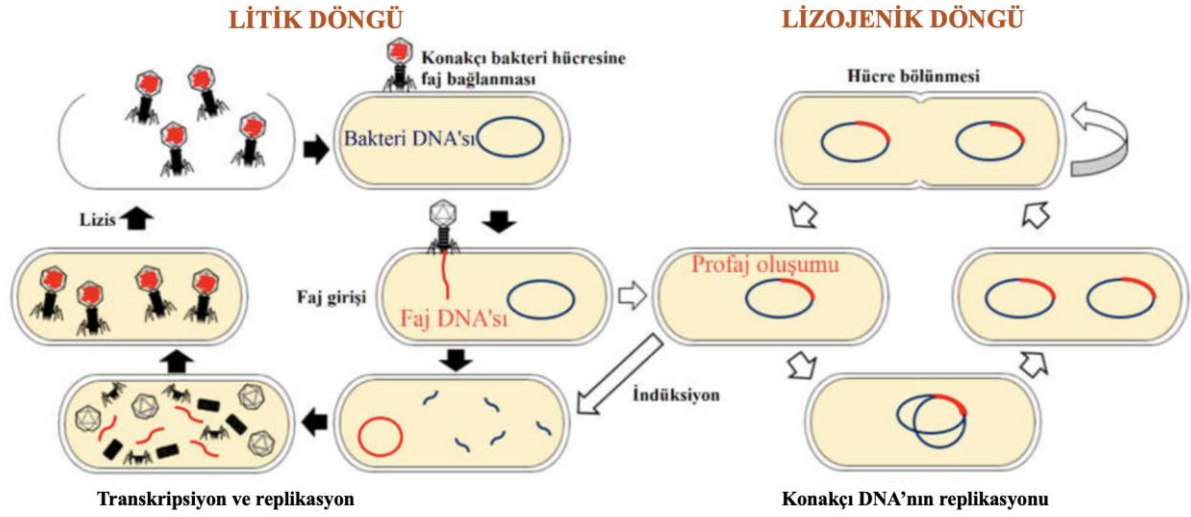
Caudovirales takımına ait 500’ü aşkın faj, kuyruklu ve çift sarmallı DNA (dsDNA)’ya sahiptir. Bu takım Myoviridae, Podoviridae ve Siphoviridae olmak üzere üç aileye ayrılır. uzun ve esnek bir kuyruğa sahip olan Siphoviridae ailesi üyesi fajlar uzun ve esnek yapıda bir kuyruğa; Myoviridae ailesi üyeleri kısa ve çift katmanlı kuyruğa sahip iken Podoviridae üyeleri kısa ve kalın bir kuyruğa sahiptir.

2.2.4. Bakteriyofajların Yaşam Döngüsü

Zorunlu hücreiçi paraziti olan bakteriyofajların replikasyonu virüs replikasyonuna benzer. Fajlar, enfekte ettikleri bakterilerde enfeksiyon yeteneklerine göre lizojenik, litik ve nan-litik olarak sınıflandırılırlar. Litik döngüdeki fajlar virülan fajlar, lizojenik döngüde olan fajlar ise ılımlı fajlar olarak nitelendirilir.

Adsorpsiyon, penetrasyon, nükleik asit replikasyonu, viryon oluşumu ve konakçı hücreden salınma adımlarını içerir. Bakteriyofajlar bakteri türlerine özgüdür ve hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı bakterisidal aktivite gösterirler. Bazı fajlar sadece bir bakteri türü için spesifik bağlanma eğilimi gösterirken, bazıları da çeşitli bakteri türlerine karşı aktivite gösterebilirler. Fajların özgülüğü, bakterilerin hücre yüzey reseptörlerinin

varlığına ve çeşidine göre belirlenir. Bakteriyofajlar enfekte edebildikleri bakteri suşlarında dört aşamada enfeksiyona neden olur. Bu dört aşama adsorbsiyon, penetrasyon, latentlik ve fajın hücre dışına çıkmasıdır. Bakteriyofajların yaşam döngülerinde konak bakterilerde üç şekilde enfeksiyon yaparlar: litik, non-litik ve lizojenik enfeksiyonlar



Şekil 2.6: Fajların Yaşam Döngüleri [51].

Adsorbsiyon: Kuyruklu bakteriyofajlar bakterilere kuyrukları aracılığıyla bağlanırken kuyuksuz bakteriyofajlar ise bakterilere yüzeyleri aracılığıyla bağlanır. Bakteri yüzeyindeki lipoproteinler, pili, lipopolisakkarit, proteinler, teikoik asitler, flagella ve hücre duvarının birçok farklı bileşenleri bakteriyofajların adsorpsiyonu için bölgelerdir.

Penetrasyon: adsorbsiyon sonrası bakteriyofajın sahip olduğu genetik materyal konak bakteri hüresinin içerisine aktarılır.

Latent Dönemi: Bakteriyofajın genetik materyali hücreye aktarıldıktan sonra olgun bir fajın oluşması dönemini ifade eder. Bu kısımda üreme ve gelişim dönemi olmak üzere 2 dönem vardır. Üreme döneminde; bakteriyofajın kodladığı enzimler sayesinde bakterinin protein sentezi yapılamaz. Bakteriyofajlar genomlarını kopyalar ancak bu dönemde olgun fajlar yoktur. Gelişim döneminde ise olgun faj oluşur.

Lizis ve Dışarı Çıkış: Bakteriyofajların bakteri hücrelerini eritip ortaya çıktığı dönemdir. Litik fajlar, olgunlaştıktan sonra bakteri lizise uğrar ve bakteri parçalanır, fajlar serbest kalır. Bu aşamada non-litik döngü varsa fajlar bakteri hücresi içinde oluşur ama bakteri lizise uğramazlar ve hücre duvarından dışarı çıkarlar. Bakteri hücresi sağlam bir şekilde kalır. Lizojenik fajlarda

ise fajın DNA'sı bakteriyel DNA'ya entegre olur. Bakteri DNA'sı replike olduğunda faj da replike olur. Bu yeni hücreye de 'profaj' adı verilir.

2.2.5. Bakteriyofaj Tedavisi

Bakteriyofajların, bakteriyel enfeksiyonların tedavisi amacıyla kullanımına bakteriyofaj tedavisi denir. Bu tedavinin temelinde bakteriyi enfekte eden virüsün saflaştırılması ve hastaya verilmesidir. Antibiyotiklere alternatif olan bu tedavi yöntemi, günümüzde antibiyotiklere dirençli bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde araştırılmaktadır. Bakteriyofajlar, özgü oldukları bakterileri hedef alır ve insan hücrelerini enfekte etmezler. Bu nedenle potansiyel bir tedavi yöntemidir ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde etkili bir çözüm olabilir.

Faj tedavisi 1890'lı yıllara dayanmaktadır. Bu dönemde fajların varlığı daha net olarak kanıtlanmamıştı sadece Jumna ve Ganj Nehirlerinde yüzen kişilerin kolera enfeksiyonuna yakalanmadığı gözlemlenmişti. 1919 yılında d'Herelle, Enfants-Malades Hastanesinde 12 yaşındaki çocuk hastayı faj tedavisi ile bakteriyel dizanteriden kurtarmıştır. Bu başarısının ardından aynı tedaviyi 3 hastaya daha uygulamış ve olumlu sonuç almıştır. Aynı şekilde d'Herelle 1921 yılında Fransa'da *Staphylococcus* spp.'ye bağlı cilt lezyonlarına faj enjekte etmiş ve enfeksiyonların gerilediğini belirlemiştir.

1920'li yıllarda bakteriyofaj tedavisi yaygınlaşmış ve çeşitli hastalıkların tedavisi yapılmıştır. Bu hastalıklar arasında hıyarcıklı veba, deri enfeksiyonları, dizanteri, bubonik veba, kolera ve konjonktivit vardır [52].

Alexander Fleming 1928'de bakteri kültürleri ile çalışırken küf üreyen kısımlarda bakterilerin üreyemediğini fark etmesiyle penisilin keşfedilmiştir. Bu şekilde antibiyotikler keşfedilmiş ve insan hayatına girmiştir. Kolay elde edilebilir olmasıyla bakteri kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Daha ucuza mal edilebilir olması, hızlı etki görülmesi, kolay elde edilmesi ve çok çeşitli bakteri gruplarına etki göstermesi yönleriyle bakteriyofaj tedavisini geri planda bırakmıştır.

Antibiyotiklerin altın çağı 1940-1970 yıllarıdır ve tıp tarihindeki en önemli terapötik keşif olarak kabul edilmektedir. Ancak antibiyotiklerin kontrolsüz ve sık kullanımı ile bakteriler direnç geliştirmeye başlamış ve günümüzde giderek artmıştır. Son yıllarda gelişen direnç oranı ile yeni antibiyotik keşif oranı karşılaştırıldığında, antibiyotikler yetersiz kalmakta ve bakteriyel

enfeksiyonlar nedeniyle hayatını kaybeden kişi sayısı giderek artmaktadır. Bu nedenle bakteri etkenli enfeksiyonların tedavisinde yeni alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bakteriyofaj tedavisinin giderek artmakta olan antibakteriyel dirençle mücadelede umut vaat eden bir yöntem olacağı düşünülmektedir [53].

2.2.6. Antibiyotik ile Bakteriyofaj Tedavisinin Karşılaştırılması

- Bakteriyofajlar, spesifik bakteri türlerine özgüdür, sadece hedef bakteriyi enfekte ederek yok eder. Ancak antibiyotiklerin geniş bir etki spektrumu vardır. Bu nedenle sadece hedef bakteriyi değil mikrobiyotada bulunan sağlığımıza olumlu yönde katkıda bulunan bakterilerinde eliminasyonuna neden olur.

- Antibiyotiklere kıyasla bakteriyofajların insan sağlığına istenmeyen bir etkisi bildirilmemiştir. Bu nedenle profilaktik amaçla da kullanılabilirler.

- Bakteriler antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirebilir ancak bakteriyofajlara karşı direnç gelişimi kanıtlanmamıştır.

- Bakteriyofajların maliyetleri antibiyotikler ile kıyaslandığında daha azdır.

- Etki mekanizmaları kıyaslandığında ise antibiyotikler bakterisidal ya da bakteriyostatik etki gösterir, tedavi amaçlı kullanılan litik fajlar bakterisidal etkinlik gösterir.

- Bakteriyel hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin belirli dozlarda ve uzun zaman kullanılması gerekir fakat bakteriyofaj tedavisinde tek doz uygulamada dahi olumlu etkiler gözlenir. Hedef bakteri içerisindeki fajlar üstsel olarak çoğalır ve hücreden çıkıp diğer bakterileri enfekte eder.

- Geniş etki spektrumuna sahip antibiyotikler, hastalık etkeni belirlenmeden tedavi amaçla kullanılmaya başlanabilir ancak bakteriyofajlar bakteri türlerine spesifik oldukları için, öncelikle bakterinin doğru tanımlanması ve fajın etkiliğinin belirlenmesi gerekir.

3. YÖNTEM

3.1. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

- Steril plastik öze (Looplast,Italy)
- -80 °C derin dondurucu (Nuve)
- +4°C buzdolabı (Nüve)
- Çalkalamalı etüv
- Otoklav(Nüve)
- Güvenlik kabini (Nüve)
- Hassas terazi(KERN)
- Benmari (Nüve)
- Santrifüj (Hettich)
- Steril bisturi ucu
- Steril eküvyon
- Vorteks (Dlab Scientific)
- Mikropipet (Transferpette)
- Pipet uçları
- Cam tüp
- 2 bölmeli Petri kabı
- Tek bölmeli Petri kabı
- 0,22 enjektör uçlu filtre
- 50 ml'lik steril Falkon tüpü (Greiner)
- Eppendorf tüpler

- Kullanılan Antibiyotik Diskleri: Amoksisilin/Klavulonat(AMC, 20/10 µg), Seftazidim (CAZ, 10 µg), Gentamisin (CN, 10 µg), Trimetoprim sulfametoksazol (SXT, 25µg), Amikasin (AK,30 µg), Piperasilin/Tazobaktam (TPZ, 30-6 µg), Sefuroksim (CXM, 30 µg), İmipenem (IPM, 10 µg), Ertapenem (ETP, 10 µg), Sefotaksim (CTX, 5 µg), Meropenem (MEM, 10 µg), Ampisilin (AM, 10 µg), Siprofloksasin (CIP, 5 µg), Seftriakson (CRO, 30 µg), Sefepim (FEP, 30 µg) Tüm diskler Bioanalyse-Türkiye.

3.2. KULLANILAN BESİYERLERİ

Triptik Soya Agar-TSA (Biolab, Macaristan)

Triptik Soya Buyyon-TSB

%0.4'lük Yumuşak TSA(Yarı-katı)

Brucella Broth (Condalab, Madrid)

MacConkey Agar (Oxoid)

Mueller Hinton Agar (Biolab)

3.2.1. Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması

TSB besiyeri firma önerileri doğrultusunda 1 litrede 30 gram besiyeri tozu olacak şekilde distile su ile hazırlandı. Ardından 120°C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. TSA hazırlanması için 1 litreye 15 gram, yarı katı TSA hazırlanması için ise 100 mL'ye 0.4 gram toz agar ilave edildi ve 121 °C'de 20 dakika otoklavlandı. Hazırlanan besiyerleri çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C'lik buzdolabında saklandı.

3.3. Bakteri İzolatlarının Seçilmesi

Çalışmamıza, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı I ve Prof. Dr. Murat Dilmener Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı II'ye çeşitli servis, yoğun bakım üniteleri ve polikliniklerinden bir yıllık (Ocak 2023-Ocak2024) süre aralığında gelen kan kültürü örneklerinde üremiş ve koleksiyona kaldırılmış olan 48 *Klebsiella pneumoniae* ve 52 *Klebsiella* spp. olmak üzere toplam 100 izolat dahil edildi. *Klebsiella* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlendi; European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerileri doğrultusunda

sonuçlar Duyarlı (S), Dirençli (R) olarak belirlendi. Aynı hastadan izole edilen izolatlar çalışmaya dahil edilmedi, her hastanın bir izolatu çalışmaya alındı.

3.4. BAKTERİ KÜLTÜRLERİNİN HAZIRLANMASI

Çalışma öncesi -80°C’de koleksiyonda saklanan *Klebsiella* izolatları çıkarılıp azaltma metodu ile TSA besiyerine ekim yapılarak 18-24 saat 37°C ‘de inkübe edildi. Saf kolonilerden öze yardımı ile steril tuzlu su içerisinde 0.5 McFarland bulanık standartına(10^8 kob/mL) uygun olacak şekilde sıvı bakteri süspansiyonları hazırlandı. İçerisinde 5 ml TSB besiyeri bulunan tüpe bakterili süspansiyondan 1 öze dolusu (10 µL) alınarak ilave edildi. Bu tüp gözle görülebilir 0.5 McFarland bulanık standartına gelene kadar 37°C çalkalamalı etüvde inkübe edildi.

3.5. BAKTERİYOFAJ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Bu araştırmada, önceki tez çalışmamızda [13] atık sulardan çok-ilaca-dirençli *K. pneumoniae*’ye özgü izole edilen ve KPF6 fajı olarak isimlendirdiğimiz bir bakteriyofajın kan kültüründen izole edildi 100 *Klebsiella* izolatlarına olan etkinliği spot test yöntemi ile araştırıldı [54]. Bu yöntemde TSB, TSA ve yarı katı TSA besiyerleri kullanıldı. Çalışma sırasında yarı katı TSA’nın donmaması için; 2.5 ml besiyeri konulmuş cam tüpler 40°C’de benmaride bekletildi. TSB’de içerisinde bakteriler 0.5 McFarland standardına ulaşana çalkalamalı etüvde bekledildi ve buradan 50 µL benmaride bekleyen yarı katı TSA besiyeri üzerine ilave edildi. Bakteri ve yarı katı TSA karışımının homojenliğini sağlamak amacıyla cam tüp vortekslendi. Çalışmamızda 2 bölmeli petriler kullanıldı ve hazırladığımız TSA besiyeri bu bölmelere eşit olarak dağıtıldı. Yarı katı-bakteri karışımı, TSA besiyerinin üzerine döküldü ve güvenlik kabininde kuruması bekletildi. KPF-6 olarak isimlendirilen fajdan mikropipet yardımı ile 10 µL alınarak donmuş olan yarı-katı agarların üzerine damlatıldı. Petriler 10 dakika kadar kabin içerisinde bekletildi ve kuruduktan sonra 37°C’de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası faj plaklarının varlığı araştırıldı. Bakteriyofajın damlatıldığı yerde faj plağı oluşması ve bakteri ürememesi faj etkili; faj plağı oluşmayıp bakteri üremesi ise faj etkisiz olarak değerlendirildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. bakteriyofajın etkili olduğu bakteri ve oluşan faj plağı (sol), bakteriyofajın etkisiz olduğu bakteri (sağ) (Çalışmamızdan)

3.5.1. Tek Plak İzolasyonu ile Faj Saflaştırılması

Klebsiella izolatlarında gözlemlediğimiz saf faj plağının şeffaf kısmını steril bistüri ucu ile petriden kesilip alındı. Kesilen kısım, içerisinde 3ml TSB olan 50 mL’lik steril falkon tüpüne alındı. Falkon tüpü vortekslendi ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra tüpe 100 μ L sıvı bakteri kültüründen eklendi ve faj – bakteri adsorbsiyonu için tekrar vortekslendi. Tüpe 5 mL daha TSB eklenerek 37°C etüvde 18 saat inkübe edildi. inkübasyon süresi sonunda besiyeri ve hücre atıklarının uzaklaştırılması için 10 dakika 5000 rpm’de santrifüj edildi. Bakteriyofajın saflaştırılması için üst sıvı 0.22 μ m por çaplı enjektör uçlu filtreden geçirilerek başka bir steril falkon tüpüne alındı. Çalışmalarda kullanmak için +4 °C buzdolabında muhafaza edildi.

3.5.2. Bakteriyofaj Konsantrasyonunun Hesaplanması

Tek plak izolasyonu ile saflaştırılmış KPF-6 bakteriyofajının konsantrasyonunu hesaplamak amacıyla ‘ikili agar kaplama metodu’ kullanıldı. İlk olarak bakteriyofajın sıralı dilüsyonları (10^{-1} , 10^{-2} ,... 10^{-7}) hazırlandı. Çalkalamalı etüvde 0.5 McFarland bulanıklık standardına ulaşan bakteri kültüründen 100 μ L, sıralı dilüsyonu yapılmış bakteriyofaj solüsyonundan 200 μ L alınarak, içerisinde 5 ml yarı katı TSA bulunan tüpe konuldu (her dilüsyonda aynı işlem ayrı ayrı gerçekleştirildi). İçerisinde besiyeri, faj ve bakteri bulunan tüp vorteks ile iyice karıştırıldı ve TSA bulunan petriye (tek bölmeli petri kabı) yayıldı.

Oda sıcaklığında 15 dakika bekletildikten sonra 37 °C etüve kaldırıldı, 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petride oluşan faj plakları sayıldı.

$$\text{Plak Oluşturan Birim / mL} = \text{Plak Sayısı} \times \text{Dilüsyon} / \text{Eklenen Faj Miktarı}$$

(pob/mL) (mL)

Yukarıda verilen formül ile bakteriyofajların pob/mL cinsinden bakteriyofaj konsantrasyonu hesaplandı.



4. BULGULAR

4.1. İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Çalışmamıza, bir yıllık (Ocak 2023-Ocak2024) süre aralığında kan kültürlerinde üreyen ve koleksiyona kaldırılmış olan 48 *Klebsiella pneumoniae* ve 52 *Klebsiella* spp. olmak üzere toplam 100 izolat dahil edildi. Bu izolatların EUCAST kriterlerine göre test edilmiş antibiyotikler için direnç oranları Tablo 4.2 ve Şekil 4.1’de gösterildi. Çalışmaya dahil ettiğimiz *K. pneumoniae* izolatlarımız sırasıyla IMP (%87,5), MEM (%87,5), ETP (%91,66), CAZ (%93,75), CRO (%93,75), CTX (%93,75), FEP (%93,75), CXM (%93,75), AMP (%100), AMC (%95,83), TZP (%93,75), AK (%91,66), CN (%89,58), SXT (%95,83), CIP (%95,83)’ne; *Klebsiella* spp. izolatlarımızdan sırasıyla IMP (%34,61), MEM (%42,30), ETP (%63,45), CAZ (%75), CRO (%75), CTX (%76,92), FEP (%75), CXM (%76,92), AMP (%100), AMC (%80,76), TZP (%65,38), AK(%53,84), CN (%67,30), SXT (%5,76), CIP (%71,15)’ne daha yüksek direnç oranlarına sahipti.

Klebsiella izolatlarımızda karbapenemler için direnç oranı ortalama %67 ve sefalosporinler için ise ortalama %84’idi. Bu oranlar *K. pneumoniae* izolatlarımızda karbapenemler için ortalama %89,58 ve *Klebsiella* spp. izolatlarımızda ise, ortalama %46,15’idi. Sefalosporinler için ise *K. pneumoniae* için ortalama %93.75, *Klebsiella* spp. izolatlarımızda ortalama %75’idi. *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp. izolatlarımız sırasıyla aminoglikozitlerden AK’ne %91,66 ve %53,84; CN’ye %89,58 ve %67,30 direnç oranlarına sahipti. STX’e direnç oranları *K. pneumoniae* izolatlarında %95,83 ve *Klebsiella* spp. izolatlarında ise %5,76’idi. *K. pneumoniae* %95,83 ve *Klebsiella* spp. izolatları %71,15 CIP direnç oranlarına sahipti (Tablo 4.3 ve Şekil 4.2).

Tablo 4.1: *Klebsiella* izolatlarının (K1-K100) antibiyotik duyarlılıkları.

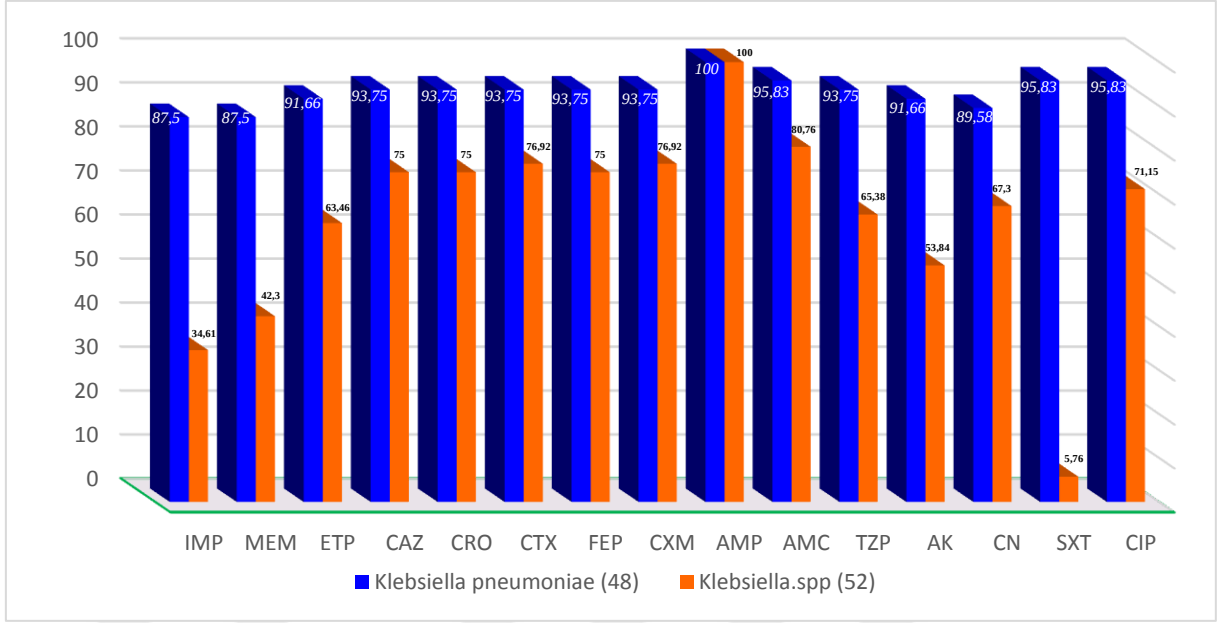
Antibiyotik Bakteri	IMP	MEM	ETP	CAZ	CRO	CTX	FEP	CXM	AMP	AMC	TZP	AK	CN	SXT	CIP
K1	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
K2	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R
K3	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
K4	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
K5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K6	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K8	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K11	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K12	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
K13	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
K14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K15	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K16	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
K17	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K18	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K19	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K20	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K21	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K22	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K24	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K25	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K26	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K27	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
K28	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K29	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K30	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R
K31	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
K32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K33	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K34	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S
K35	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K36	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K37	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K38	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K39	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
K40	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K41	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
K42	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
K43	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
K44	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S

[illegible]

Tablo 4.2: Çalışmaya alınan kan kültürlerinden izole edilen *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp. izolatlarının antibiyotik direnç profilleri.

Bakteri Antibiyotik	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (48)	<i>Klebsiella</i> spp. (52)
IMP N (%)	42 (87,5)	18 (34,61)
MEM N (%)	42 (87,5)	22 (42,30)
ETP N (%)	44 (91,66)	33 (63,46)
CAZ N (%)	45 (93,75)	39 (75)
CRO N (%)	45 (93,75)	39 (75)
CTX N (%)	45 (93,75)	40 (76,92)
FEP N (%)	45 (93,75)	39 (75)
CXM N (%)	45 (93,75)	40 (76,92)
AMP N (%)	48 (100)	52 (100)
AMC N (%)	46 (95,83)	42 (80,76)
TZP N (%)	45 (93,75)	34 (65,38)
AK N (%)	44 (91,66)	28 (53,84)
CN N (%)	43 (89,58)	35 (67,30)
SXT N (%)	46 (95,83)	3 (5,76)
CIP N (%)	46 (95,83)	37 (71,15)

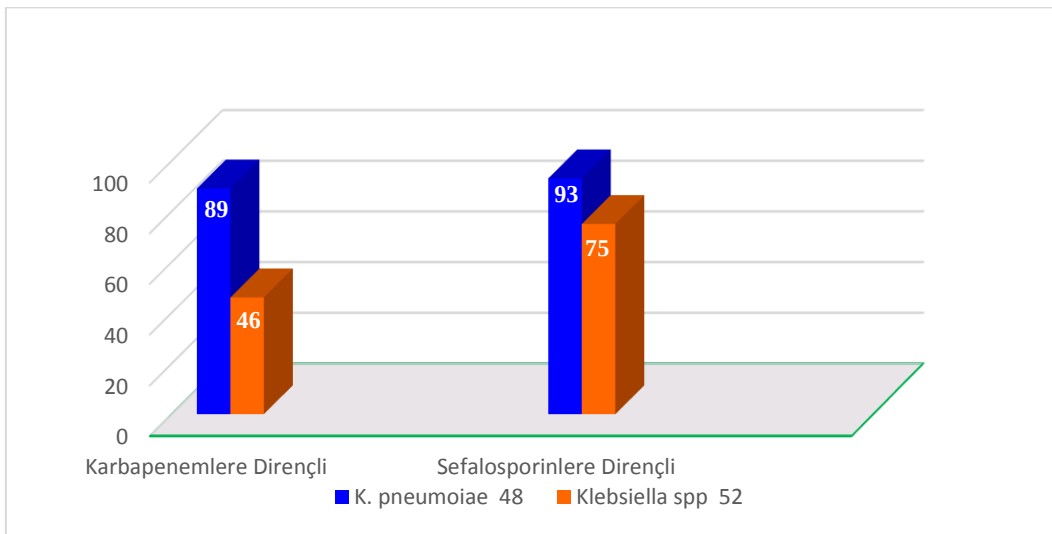
İmipenem (IMP), Meropenem (MEM), Ertapenem (ETP), Seftazidim (CAZ), Seftriakson (CRO), Sefotaksim (CTX), Sefepim (FEP), Sefuroksim (CXM), Ampisilin (AMP), Amoksilin/Klavulonat (AMC), Piperasilin/Tazobaktam (TZP), Amikasin (AK), Gentamisin (CN), Trimetoprim sulfametoksazol (SXT), Siprofloksasin (CIP)



Şekil 4.1: *K. pneumoniae* ve *Klebsiella spp.* izolatlarının antibiyotik direnç durumları.

Tablo 4.3: *K. pneumoniae* ve *Klebsiella spp.* izolatlarının karbapenemlere ve sefalosporinlere direnç durumları.

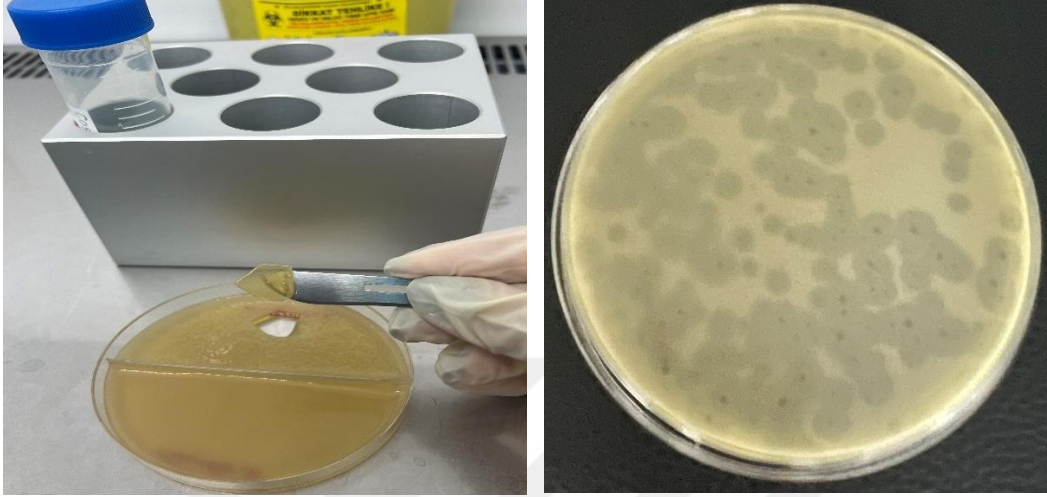
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	Toplam
Karbapenemlere Dirençli	43 (%89,58)	24 (%46,15)	67
Sefalosporinlere Dirençli	45 (%93,75)	39 (%75)	84



Şekil 4.2: *K. pneumoniae* ve *Klebsiella spp.* izolatlarının karbapenemlere ve sefalosporinlere direnç durumları

4.2. KPF-6 BAKTERİYOFAJININ KONSANTRASYONU

KPF-6 fajının pob/mL cinsinden konsantrasyonun saptamak amacıyla ‘ikili agar kaplama metodu’ 3.5.2’de açıklandığı gibi yapıldı ve hesaplandı (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 : Saf faj plağının steril bistüri ucu ile alınması (Sol), ikili agar kaplama metodu oluşan faj plakları (Sağ)

Bakteriyofajın konsantrasyonu $1,4 \times 10^8$ pob/mL olarak hesaplandı.

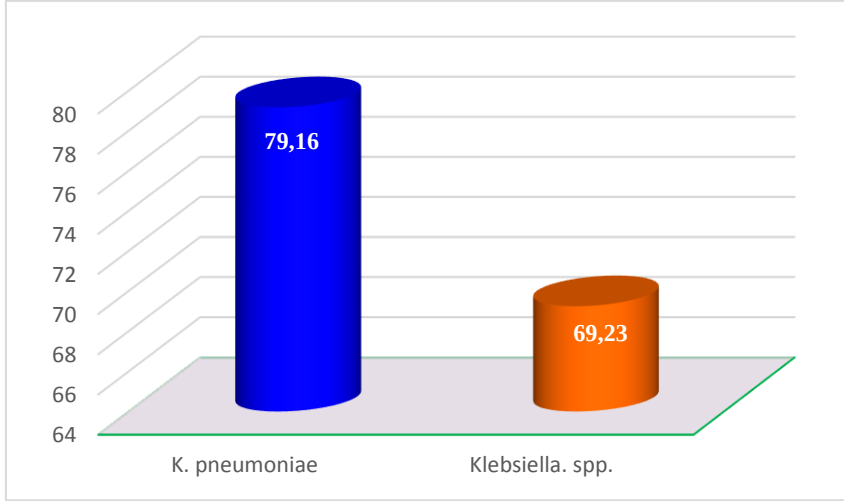
4.3. KPF-6 BAKTERİYOFAJININ ETKİNLİĞİ

Bu çalışmada, önceki çalışmamızda atık sulardan çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae* konak bakteri kullanılarak izole edilen ve -80°C de muhafaza edilen KPF6 fajı olarak isimlendirdiğimiz hazır faj [13] kullanıldı. KPF6 fajının farklı direnç oranlarına sahip 100 *Klebsiella* izolatına olan etkinliği spot test yöntemi ile saptandı.

Çalışmaya alınan farklı direnç oranlarına sahip *Klebsiella* izolatlarına KPF-6 fajının, %74 oranında etkili olduğu bulundu. KPF-6 fajın etkinlik oranları *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp. izolatları için ise sırasıyla %79,16 ve %69,23 olarak tespit edildi (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4).

Tablo 4.4: KPF-6 fajının *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp. izolatlarına etkinliği.

KPF-6 Faj etkinliği		Toplam İzolat
<i>K. pneumoniae</i>	38 (%79,16)	48
<i>Klebsiella</i> spp.	36 (%69,23)	52
Toplam	74	100

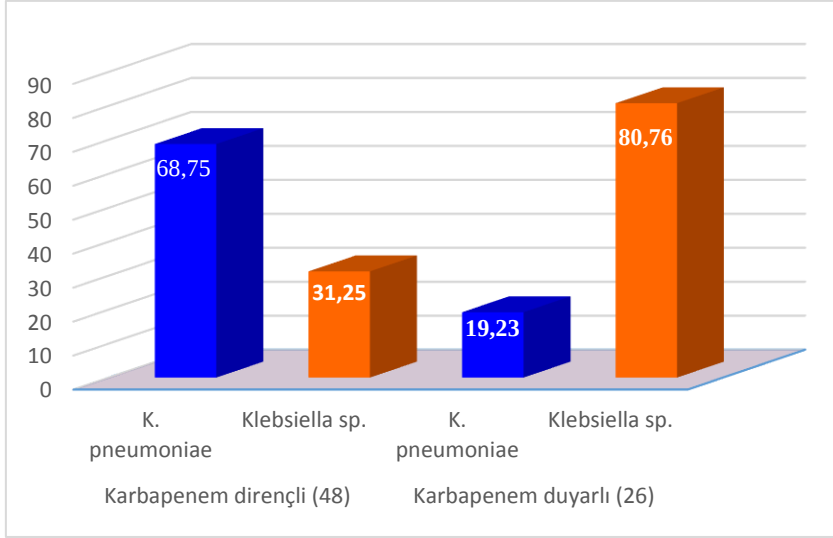


Şekil 4.4: KPF-6 fajının *K. pneumoniae* ve *Klebsiella spp.* izolatlarına etkinliği

Karbapenem dirençli 67 *Klebsiella* izolatımızın 48 (%71,6) 'ine KPF-6 fajının etkili olduğu bulundu. Faj etkinliği karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında (%68,75) ve karbapenem dirençli *Klebsiella spp.* izolatlarından (%31,25) ise daha yüksek bulundu. Bunun nedeni faj etkili karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının sayısı *Klebsiella spp.* izolatlarından daha yüksekti. Karbapenem duyarlı 33 *Klebsiella* izolatlarımızın 26 (%78,78)'sına KPF-6 fajı etkiliydi. Faj etkinliği karbapenem duyarlı *K. pneumoniae* izolatlarımızda % 19,23 ve karbapenem duyarlı *Klebsiella spp.* izolatlarımızda ise %80,76 oranında daha yüksek tespit edildi. (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5). Bu nedenle istatistiksel olarak Ki-kare istatistiği 16.5542'dir. P değeri 0,000047'dir. $P < 0,05$ 'te anlamlı gözükse de Karbapenem duyarlı izolatlar arasında *K. pneumoniae* izolatlarımızın sayısı sadece beşti.

Tablo 4.5: KPF-6'nın etkili olduğu *Klebsiella* izolatlarının karbapenem duyarlılığı.

Bakteri	KPF-6 Faj etkinliği		Toplam
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	
Karbapenem dirençli	33 (%68,75)	15 (%31,25)	48
Karbapenem duyarlı	5 (%19,23)	21 (% 80,76)	26
Toplam	38	36	74



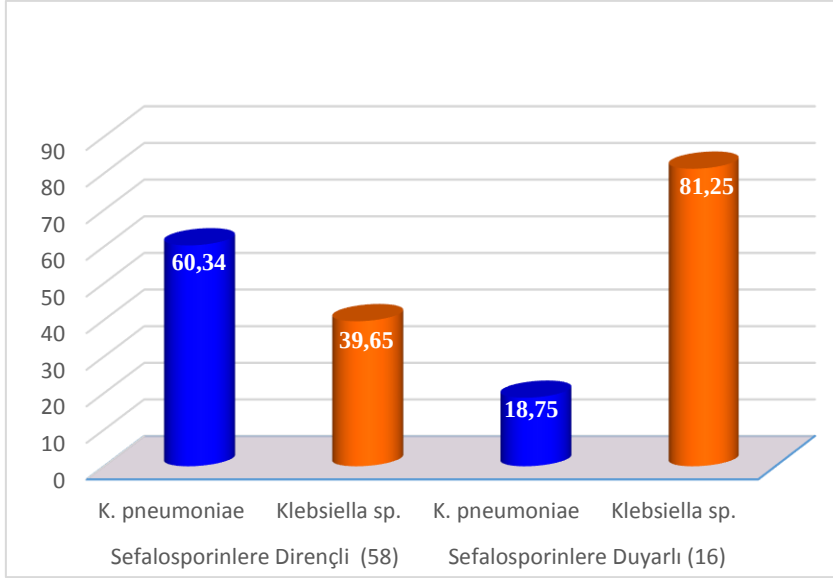
Şekil 4.5: KPF-6 fajının Karbapenem dirençli ve duyarlı *K. pneumoniae* ve *Klebsiella spp* izolatlarının etkinliği.

Sefalosporinlere dirençli 84 *Klebsiella* izolatının 58 (%69,4) 'ine KPF-6 fajının etkili olduğu bulundu. Faj etkinliği, sefalosporin dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında %60,34 ve *Klebsiella spp.* izolatlarında %39,65 oranında tespit edildi (Tablo 4.6 ve Şekil 4.6).

KPF-6 fajı sefalosporinlere duyarlı 16 *Klebsiella* izolatına etkiliydi. Faj, bunlardan sefalosporinlere duyarlı 3 (%18,75) *K. pneumoniae* 'ye ve sefalosporinlere duyarlı 13 (%81,25) *Klebsiella spp.* izolatına etkili oldu (Tablo 4.6 ve Şekil 4.6).

Tablo 4.6 KPF-6 fajının Sefalosporin dirençli *K. pneumoniae* ve *Klebsiella spp.* izolatlarına etkinliği.

Bakteri	KPF-6 Faj etkinliği		Toplam
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	
Sefalosporinlere dirençli	35 (%60,34)	23 (%39,65)	58
Sefalosporinlere duyarlı	3 (%18,75)	13 (% 81,23)	16
Toplam	38	36	74

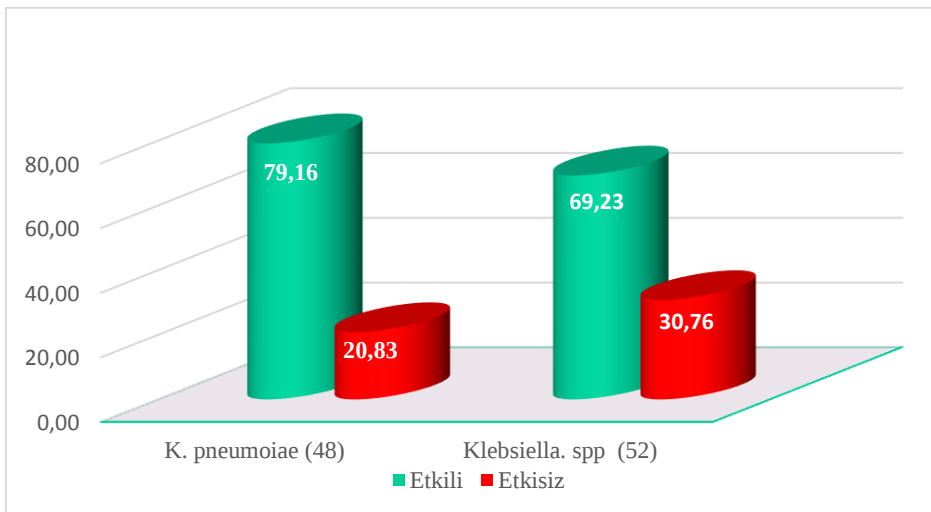


Şekil 4.6: KPF-6 fajının Sefalosporin dirençli *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp. izolatlarının etkinliği.

KPF-6 fajının amikasinine dirençli 51, gentamisine dirençli 55 ve siprofloksasine dirençli 58 *Klebsiella* izolatına etkili olduğu tespit edildi.

4.4. KPF-6 BAKTERİYOFAJIN ETKİSİZ KALDIĞI İZOLATLAR

KPF-6 fajı, çalışmaya alınan farklı direnç oranlarına sahip *Klebsiella* izolatlarına, % 74 oranında etkili olmasına rağmen %26 oranında etkisiz bulundu.



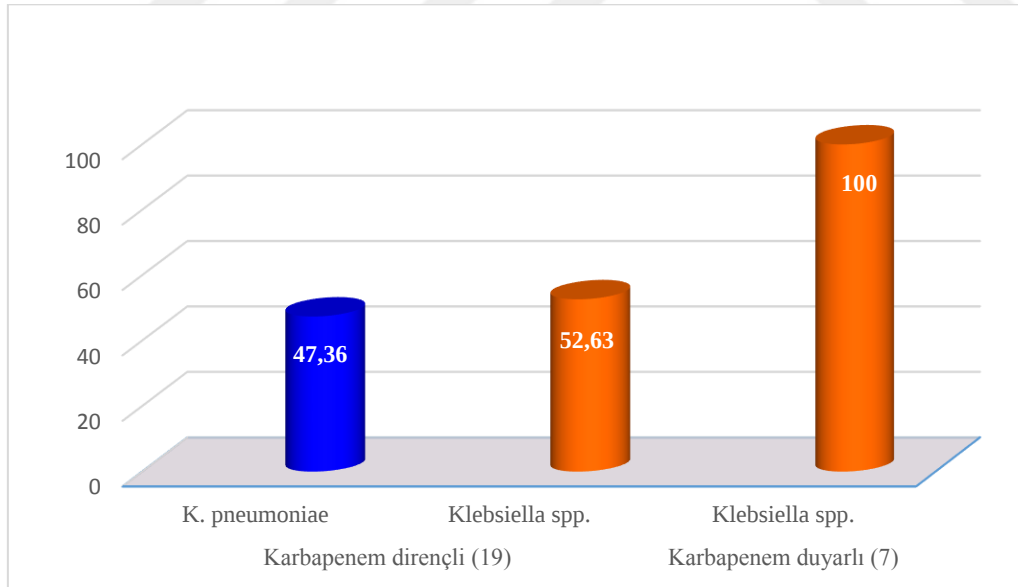
Şekil 4.7: KPF-6 fajının *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp. izolatlarının etkinliği

Faj etkisiz izolatların 10 (%20,83)'u *K. pneumoniae* ve 16 (%30,76)'sı *Klebsiella* spp.'dir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: KPF-6 fajının etkisiz kaldığı *Klebsiella* izolatları.

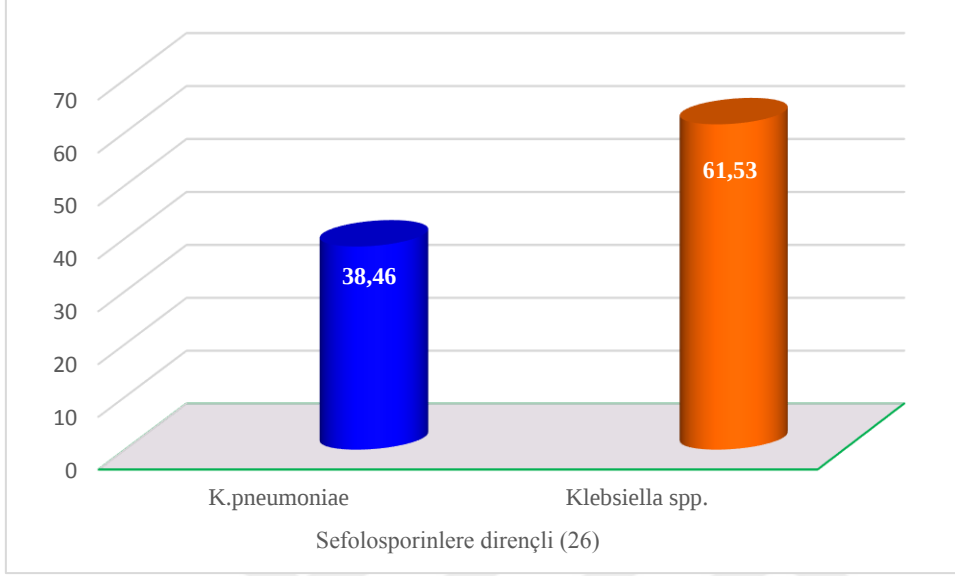
KPF-6 Faj etkisizliği		Toplam
<i>K. pneumoiniae</i>	10 (%20,83)	48
<i>Klebsiella spp</i>	16 (%30,76)	52
Toplam	26	100

Karbapenem dirençli izolatlarda %28,35 (67/19) oranında faj etkisiz kaldı. Faj etkisiz karbapenem dirençli izolatların 9'u (%47,36) *K. pneumoniae*, 10'u (%52,63) *Klebsiella* spp.'idi. Ayrıca karbapenem duyarlı *Klebsiella* spp. izolatında da faj etkisiz kaldı. Bunun muhtemel nedeni KPF 6 fajı çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae* izolatına spesifik izole edilmişti. KPF-6 fajının etkisiz kaldığı karbapenem duyarlı *K. pneumoniae* izolatımız yoktu (Şekil 4.8).



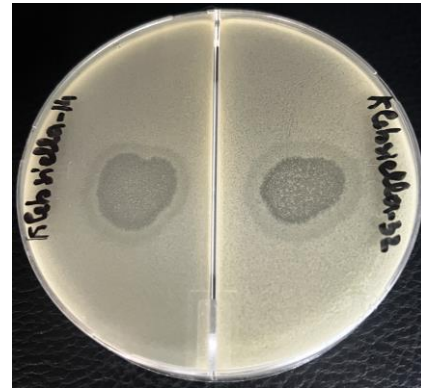
Şekil 4.8: KPF-6 fajının karbapenem dirençli ve duyarlı *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp izolatlarına olan etkisizliği

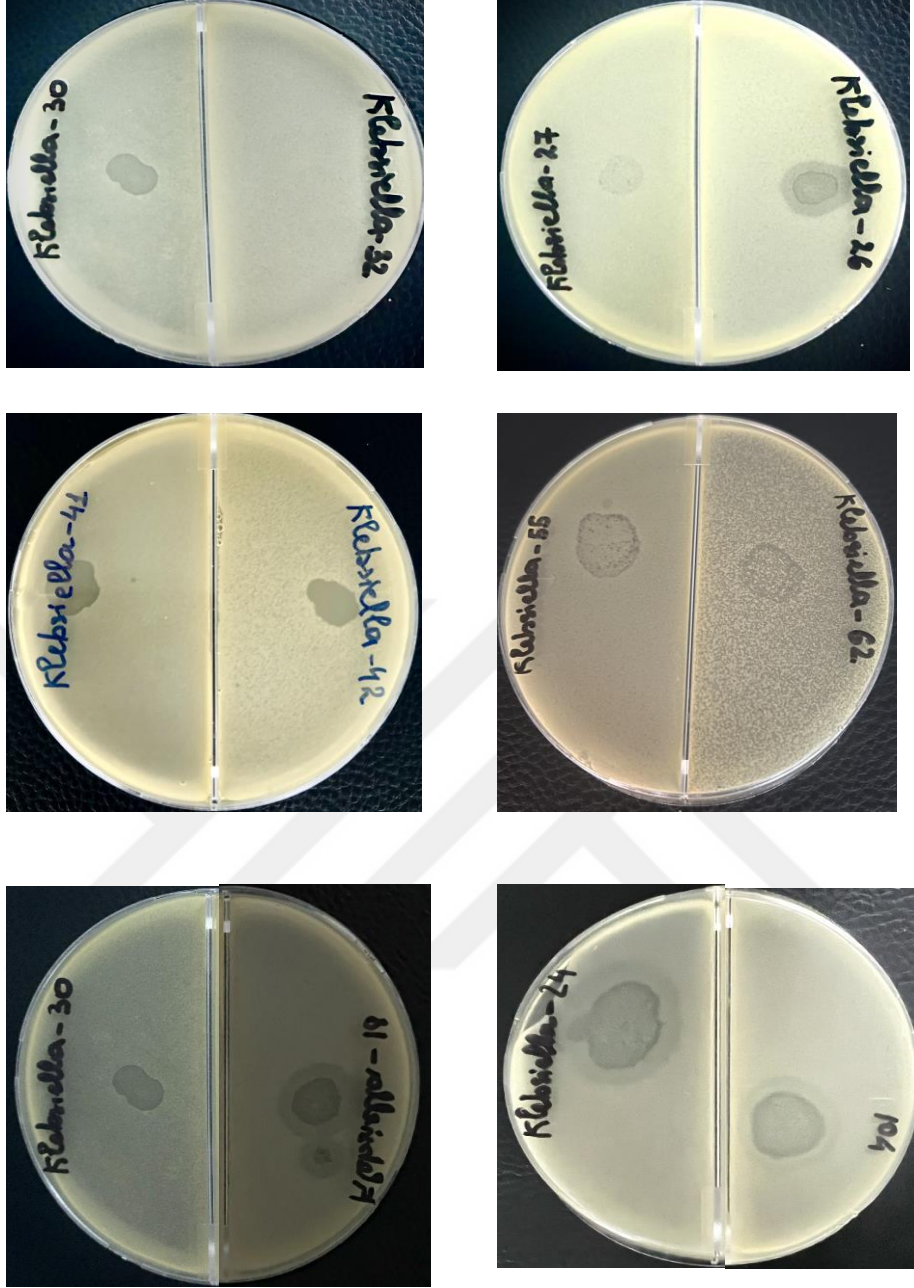
KPF-6 fajının etkisiz kaldığı 26 izolat sefalosporinlere dirençliydi. Bunların 10'u *K. pneumoniae* ve 16'sı *Klebsiella* spp.'idi. Fajın etkisiz kaldığı sefalosporinlere duyarlı izolat tespit edilmedi (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: KPF-6 fajının sefalosporin dirençli *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp izolatlarına olan etkisizliği

Faj etkisiz izolatlarımızın 21'i amikasin, 23'ü gentamisin ve 25'i siprofloksasine dirençliydi.





Şekil 4.10: Spot test yöntemi ile KPF-6 fajının etkinlikleri (Çalışmamızdan)

5. TARTIŞMA

K. pneumoniae, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler arasında, toplumdan edinilen ve hastane kaynaklı enfeksiyonların baskın bir nedenidir. MDR izolatların artan varlığı, antimikrobiyal ajanların etkinliğini önemli ölçüde etkilemiştir ve bu izolatlarla meydana gelen enfeksiyonların tedavisini de zorlaştırmaktadır. Bu durum, halk sağlığı için önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

Bu çalışmaya, bir yıllık sürede kan kültürlerinde üreyen ve koleksiyona kaldırılmış olan *Klebsiella* izolatları dahil edilmiştir. İzolatlarımızda direnç oranları oldukça yüksekti. İzolatlar, karbapenemler için ortalama %67 ve sefalosporinler için ise ortalama %84 direnç oranlarına sahipti. Bu oranlar karbapenemler için *K. pneumoniae* izolatlarında % 89,58 ve *Klebsiella* spp. izolatlarında %46,15 ve sefalosporinler için ise, *K. pneumoniae* izolatlarında %93,75 ve *Klebsiella* spp izolatlarında %75’idi (Tablo 4.3 ve Şekil 4.2). Ayrıca *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* spp. izolatlarımız sırasıyla amikasinine %91,66 ve %53,84; gentamisine %89,58 ve %67,30; siprofloksasine %95,83 ve %71,15; trimetoprimisulfametoksazole ise %95,83 ve %5,76 oranlarında bir dirence sahipti (Tablo 4.2 ve Şekil 4.1).

Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı (USHİESA)’nın 2022 yılında yayınladığı enfeksiyon etkenleri ve direnç oranları verilerine göre, Türkiye genelinde; tüm *Klebsiella pneumoniae*’lerde karbapenem direnci %66,56’dır. Özel hastaneler, eğitim ve araştırma hastaneleri, devlet hastaneleri ve üniversite hastaneleri bu verilere dahil edilmiştir. Sağlık Bakanlığı, Devlet Hastanelerinde karbapenem direnç oranı %72,26; Üniversite Hastanelerinde %67,75; Sağlık Bakanlığı Eğitim ve Araştırma Hastanelerinde %65,56 iken bu oranın Özel Hastanelerde %57,48 olduğu bildirilmiştir [55].

DSÖ’nün 2024 yılında yayınladığı öncelikli patojenler listesinde, antimikrobiyallere direnç kazanan ve insan sağlığı açısından ciddi tehdit oluşturan mikroorganizmalar arasında kritik grupta karbapenem dirençli ve 3. Kuşak sefalosporin dirençli Enterobacterales ailesi üyeleri yer almaktadır [1]. *Klebsiella* türleri de bu ailenin bir üyesidir. Antibiyotik direnci dünya çapında giderek yaygınlaştığından, patojenik bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için bakteriyofajların kullanımı son zamanlarda dikkat çekmektedir.

Dirençli *K. pneumoniae* izolatların etkin bir şekilde kontrol altına alınması için alternatif tedavi yöntemleri arayışı, son yıllarda artan bir şekilde önem kazanmıştır. Bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için bakteriyel virüsleri (bakteriyofaj) kullanan faj tedavisi uygulaması neredeyse bir asırdır mevcuttur. Bakteriyel patojenlere karşı antibiyotik direncinde devam eden artışın üstesinden gelmek için, potansiyel bir strateji olarak faj uygulamasının yeniden gözden geçirilmesi konusu, çoklu ilaca dirençli *Klebsiella* türleriyle mücadelede potansiyel bir çözüm olarak değerlendirilmektedir [56]. Bakteriyofajlar, özellikle bakterileri hedef alan ve enfekte eden virüslerdir. Yararlı bakterilere zarar vermeden bakteriyel patojenleri seçici olarak öldürme yetenekleri sayesinde potansiyel terapötik ajanlar olarak her zaman büyük ilgi topladılar.

Bu çalışmada atık sudan izole edilen *K. pneumoniae*'ye etkili "KPF-6" olarak isimlendirdiğimiz bakteriyofajımızın kan kültürlerinden izole edilen farklı direnç oranlarına sahip *Klebsiella* izolatlarına %74 oranında etkili olduğu bulundu. *K. pneumoniae*'ye karşı etkinliği %79,16 ve *Klebsiella* spp izolatlarına etkinliği ise %69,23 olarak tespit edildi (Tablo 4.3 ve Şekil 4.4).

KPF-6 fajı karbapenem dirençli *Klebsiella* izolatlarının %71,6'sına etkili oldu. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında (%68,75) faj etkinliği *Klebsiella* spp. izolatlarından (%31,25) daha yüksek bulundu. Bunun nedeni faj etkili karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının sayısı *Klebsiella* spp. izolatlarından daha yüksekti (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5).

Karbapenem duyarlı *Klebsiella* izolatlarının %78,78'de KPF-6 fajı etkiliydi. Karbapenem duyarlı *Klebsiella* spp. izolatlarımızda (%80,76) faj etkinliği ise, *K. pneumoniae* izolatlarından (% 19,23) daha yüksekti. Ancak karbapenem duyarlı izolatlar arasında *K. pneumoniae* izolatlarımızın sayısı (sadece 5) düşüktü

KPF-6 fajının sefalosporinlere dirençli *Klebsiella* izolatlarının %69,4'ne etkili olduğu bulundu. Faj etkinliği, sefalosporin dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında %60,34 ve *Klebsiella* spp. izolatlarında %39,65 oranında tespit edildi. Faj etkili sefalosporinlere duyarlı *Klebsiella* izolatlarından 3 (%18,75)'ü *K. pneumoniae* ve 13 (%81,25)'ü ise *Klebsiella* spp. izolatıydı (Tablo 4.6 ve Şekil 4.6). Ayrıca 51 amikisine dirençli, 55 gentamisine dirençli ve 58 siprofloksasine dirençli *Klebsiella* izolatına KPF-6 fajının etkili olduğu tespit edildi.

Bu sonuçlar umut vericidir. Bakteriyofaj tedavisinin antibiyotiğe dirençli patojen *Klebsiella* türlerine karşı uygulanabilir bir potansiyel tedavi stratejisi sunmaktadır.

Bulgularımız, bakteriyofajların ilaca dirençli *K. pneumoniae*'ye karşı etkinliğini gösteren önceki araştırmalarla da uyumludur.

Michodigni ve arkadaşları, imipenem ile kombinasyon halindeki iki fajlı kokteylin, in vitro karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* büyümesindeki artışı sinerjistik olarak geciktirebildiğini gösterdi [57].

Peng ve arkadaşları, çoklu ilaca dirençli *K. pneumoniae* klinik izolatlarını hedef alan izole ettikleri bir faj vB_KleM_KB2 fajının *K. pneumoniae*'nin çoklu ilaca dirençli izolatlarının neden olduğu hastalığın kontrolü için umut verici bir alternatif olduğunu bildirmişlerdir [58].

Lin ve arkadaşları çalışmalarında, antimikrobiyal dirençle mücadelede faj tedavisinin daha geniş etkilerine ilişkin değerli bilgiler sunmuşlardır [59]. Kondo ve arkadaşlarının çalışmasında, klinik örneklerden elde edilen IMP-6 üreten *K. pneumoniae* bakterilerine karşı potansiyel bir tedavi ajanı olarak kullanılabilecek 29 yeni izole ettikleri bakteriyofaj terapisinin potansiyeli araştırılmış ve bu bakteriyofajların geniş bir genetik çeşitliliğe ve potansiyel olarak etkili antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir [60].

Gan ve arkadaşları çalışmalarında, iki fajdan oluşan bir kokteyl kullanarak bir fare enfeksiyonu modelinde pnömoninin erken evresi için, bariz yan etkileri teşvik etmeden etkili bir tedavi sağladıklarını bildirdiler [61].

Martins ve arkadaşlarının çalışmasında sekiz litik fajdan oluşan bir faj kokteyli, insanlarda potansiyel kullanım için karakterize edildi. Dört farklı ülkeden klinik enfeksiyonlardan toplanan farklı genetik geçmişlere sahip 56 *K. pneumoniae* izolatlarından oluşan bir koleksiyon kullanılarak bu yaklaşımın etkinliği araştırıldı. Dirençli olan bu bakteri klonu ile meydana gelen insan enfeksiyonlarına karşı potansiyel etkili bir çözüm olacağı gösterildi [62].

Bu çalışmalar ve daha pek çok çalışmada, *K. pneumoniae* fajlarının diğer dirençli *Klebsiella* türleri üzerindeki etkinliği araştırılmış ve elde ettikleri bulgular fajların alternatif tedavi potansiyeline ışık tutmuştur. Faj terapisinin klinik ortamlarda uygulanması, çoklu ilaca dirençli *Klebsiella* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde ümit verici sonuçlar vermektedir. Çalışmalar arasındaki tutarlılık, bakteriyofajların antibiyotik direnciyle

mücadelede çeşitli çoklu ilaca dirençli bakteriyel patojenlere karşı etkinliğini ve terapötik potansiyelini ortaya koymaktadır.

İn vitro çalışmamızda, *K. pneumoniae*'ye özgü “KPF-6” litik fajın farklı antibiyotiklere dirençli *Klebsiella* izolatlarını enfekte etme ve öldürme yeteneğini ortaya koyduk. Bulgularımız, KPF-6 fajımızın, antibiyotik direnç profillerine bakılmaksızın test edilen tüm *Klebsiella* izolatlarında bakteri sayısını etkili bir şekilde azaltarak geniş konakçı aralığı aktivitesi sergilediğini gösterdi.

Ancak faj çalışmalarında gözlemlenen umut verici sonuçlara rağmen, faj stabilitesi, konakçı aralığı spesifikliği ve bakteri izolatları tarafından faj direncinin geliştirilmesi gibi önemli zorluklar vardır [63].

Bizim çalışmamızda da, KPF-6 fajı, çalışmaya alınan farklı direnç oranlarına sahip *Klebsiella* izolatlarına % 74 oranında etkili bulunmasına rağmen %26 oranında etkisiz kaldı. Fajın etkisiz kaldığı karbapenem dirençli izolatların 9'u *K. pneumoniae*, 10'u *Klebsiella* spp.'di. KPF-6 fajı, çoklu ilaç dirençli özellikle karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'yi hedef alan bir fajdı. Sadece 9 karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'ye etkisiz kaldı bu önemli bir sonuçtur. Hatta *Klebsiella* spp. izolatlarında 10 izolata ve karbapenem duyarlı 7 *Klebsiella* spp. izolatına etkisiz kaldı. Bu etkili bir fajda beklediğimiz bir sonuçtur. İlginç olan faj etkisiz kalan izolatlarımızın hepsi sefalosporinlere dirençliydi. Ayrıca faj etkisiz izolatlarımızın 21'i amikasin, 23'ü gentamisine ve 25'i siprofloksasine dirençliydi.

Bakteri süşunun tam olarak hedeflenmesi olarak bilinen faj spesifikliği, faj tedavilerinin başarılı bir şekilde uygulanmasının önünde önemli bir engel olabilir. Bu özgülük, kuyruk lifleri üzerinde yer alan faj reseptör bağlayıcı proteinler ile duyarlı bakteri konakçı hücre yüzeyinde kodlanan faj reseptörleri arasındaki tanımadaki anahtar adımla doğrudan bağlantılıdır [64] [65]. Diğer bazı araştırmalar da bakteriyofajların belirli direnç mekanizmalarına sahip *K. pneumoniae* süşları üzerinde etkisiz olduğunu göstermiştir [63,66,67].

Bu durum, bakteriyofajların sınırlı etkinliği ve terapi başarısızlığı riskini artırmaktadır. Bu nedenle fajlara dirençli bakteri türlerinin gelişme potansiyeli endişe vericidir. Bakteriyofajların dar konak aralığı, bunların çeşitli *Klebsiella* süşlarına karşı etkisini kısıtlayabilir ve bakteri popülasyonları üzerinde seçici baskı uygulayarak zamanla dirençli varyantların ortaya çıkmasına neden olabilir. Bakteriyel konakçılar için faj direnci geliştirmenin pek çok nedeni olabilir. Bunlardan en yaygın olan biri, enfeksiyonu önlemek amacıyla

potansiyel faj adsorpsiyonunu bloke etmek için reseptörlerin kaybı veya yapısının değişmesi ile ilişkilidir [68]. Mutantların hem çevresel örneklerde hem de enfeksiyon modellerinde faja duyarlı türlerle rekabet edememesine neden olabilir [69,70]. Ayrıca bakteriler, faj replikasyon döngüsünün neredeyse her adımını hedef alan antiviral mekanizmalar yoluyla faj saldırısını önleyebilir. [68]. Bu mekanizmalar arasında spontan kromozomal mutasyonlar, faj genetik materyalinin girişini bloke etme yeteneği (örn. süperenfeksiyonun dışlanması), DNA kısıtlama modifikasyon enzimleri, abortif enfeksiyon ve CRISPR-Cas adaptif bağışıklık (CRISPR-Cas adı verilen sistem, diziye özgü adaptif bağışıklık sağlar. CRISPR tabanlı bağışıklık, kısa virüs dizilerini hücrenin CRISPR lokusuna entegre ederek hareket eder ve hücrenin enfeksiyonları hatırlamasına, tanınmasına ve temizlemesine olanak tanır) gibi çeşitli stratejilerle savunma yapabilir. [71]. Ancak faja direnç gelişimi bakteriyel virülansın azalmasına yol açabilir [72-74]veya antibiyotiklere karşı ikincil duyarlılığı artırabilir [75,76].

Fajlar, dirençli bakterileri yeniden enfekte etmek için karşı adaptasyon sağlamanın yanı sıra kısıtlama önleyici ve anti-CRISPR enzimleri gibi bakteriyel bağışıklığa karşı koymak için kendi savunmalarını sağlayabilir [77,78].

Bakteriyofajların kullanılabilirliğini artırmak için, farklı suşlara karşı geniş spektrumlu etkinlik gösteren ve dirençli mekanizmalara karşı daha az duyarlılık geliştiren fajların tanımlanması gerekmektedir. Böylece faj tedavisinin uzun vadeli etkinliğini artırmak için bireysel bir fajın sınırlı konakçı aralığının ve faj dirençli bakteriyel mutant riskinin üstesinden gelmek için faj kokteylleri veya genetiği değiştirilmiş fajların kullanımı gibi faj direncini azaltmaya yönelik stratejiler araştırılmaktadır. Yüksek dozda fajın enfeksiyon bölgesine güvenilir bir şekilde iletebilmesi için sık tekrarlanan fajın dozlanması pratik olmayabilir, bu nedenle fajın kapsüllenmesi sürekli salım sistemleri ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Antibiyotik tedavileriyle kombinasyon halinde fajların kullanımı da yakın vadeli klinik gelişim için umut verici bir yol sunmaktadır [71].

Faj uygulamalarından önce bakteri ve fajlardaki fenotipik ve genetik çeşitliliğe ilişkin faj-konakçı etkileşimini karakterize etmekte önemli olabilir. Bakteriyofajların klinik uygulamalarında diğer bazı zorluklarda; güvenlik ve düzenleyici konuların eksikliğidir. Bu terapötik ajanların klinik kullanımı için standartlaştırılmış protokollerin oluşturulması ve güvenilirliklerinin belirlenmesi gerekmektedir. Ayrıca, bakteriyofajların farmakokinetiği, immünojenitesi ve toksisitesi gibi faktörlerin de daha kapsamlı bir şekilde araştırılması önemlidir [79].

Çalışmamız KPF-6 fajımız, umut verici sonuçlar vermiş olsa da, fajlar ve konakçıları arasındaki hızlı evrim dinamikleri nedeniyle gelecekteki araştırmalar, bakteriyofajların klinik ortamlarda çok yönlülüğünü ve uygulanabilirliğini değerlendirmek için daha geniş bir bakteri izolat yelpazesine karşı etkinliğinin araştırması gerekmektedir. Faj dirençli mutantlara karşı faj konakçı aralığına ilişkin verilerin belirlenmesi ve faj direncini baskılayan kokteyllerin geliştirilmesi fajlara dirençli bakterilerin ortaya çıkmasını engelleyebilecektir. Bazı endikasyonlar için, kişiselleştirilmiş faj terapisi yaklaşımlarının kullanılması önerilmiştir.

Kişiselleştirilmiş faj tedavisi yaklaşımlarına yönelik özel ve pragmatik bir düzenleyici çerçeve ve bilim adamları, mikrobiyologlar, doktorlar ve eczacılar arasında multidisipliner bir iş birliği, faj tedavisinin gelecekte rutin klinik uygulamalarda uygulanmasını artırmak için önemlidir. Çoklu ilaca dirençli bakterilerle mücadeleyle yönelik küresel çaba kapsamında, bazı kurumlar faj kokteylleri derlemek için faj bankaları kurmuştur. Faj direncini baskılayan kokteyllerin geliştirilmesi ile faj dirençli mutantlara karşı faj konakçı aralığı verilerinin vahşi tip bakterilerle birlikte harmanlanması gerekebilir. Ayrıca antibiyotikler ve fajlar sinerjistik olarak çalışabilir ve bakterileri antibiyotiklere karşı daha savunmasız hale getiren çeşitli özelliklere sahiptir. Fajların geleneksel antimikrobiyallerle karşılaştırıldığında sahip olduğu özelliklerden daha iyi yararlanmak ve optimize etmek için hedeflenmiş veya hatta uyarlanmış faj ürünlerinin muhtemelen antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanılması önerilebilir. Buna karşılık, tek fajları kokteyllerde birleştirmek aktivite spektrumunu genişletebilir ve herkese uyan tek tip faj preparatlarının başarısını artırabilir [63].

Fajlar konusunda bazıları, gerekli kapasite veya finansal kaynakların eksikliğinden ya da kimyasalların gerekli olduğuna inanılmasından dolayı faj tedavisine geçişin yapılamayacağını, antibiyotikler üstündür ve direnç problemini yenebilir şeklinde düşünebilir. Etkisiz antibiyotikleri geliştirmeye yönelik çabalar bu antibiyotiklerin performanslarını artırmayı başarmış olabilir [80]. Ancak bu inanç, yalnızca postantibiyotik dönemi için hesaplama gününün ertelenmesi olabilir. Bu nedenle alternatif antimikrobiyal tedavilerin geliştirilmesi kritik öneme sahiptir. Faj tedavisinin klinik uygulamasının mümkün olabilmesi için daha fazla translasyonel araştırmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen, fajlar yakın gelecekte insanların genel sağlığının korunmasında çok önemli olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, antibiyotiğe dirençli bakteriler, antibiyotiklerle elde edilen olağanüstü sağlık yararlarını tehdit etmektedir. faj tedavisi, antibiyotiklere alternatif olarak dirençli bakterilerle oluşan enfeksiyon hastalık sorununu hafifletme potansiyeline sahiptir.

Bu çalışmada *K. pneumoniae* suşunun çoklu ilaca dirençli klinik izolatlarını hedef alan yeni bir faj olan KPF-6'nın yüksek litik aktiviteye sahip olduğunu ve tedavi potansiyeli olabileceğini belirledik. KPF-6 fajımız diğer çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae* gibi zorlu patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların artan tehdidi ile mücadelede bir alternatif tedavi stratejisi olarak umut verici bir yol sunmaktadır.

KPF-6 fajının tedavisi zor enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilmesi için hem KPF-6 fajın hem de fajın etkisiz kaldığı çoklu ilaç dirençli *Klebsiella* izolatlarına etkili izole edilecek yeni fajların filogenetik analizi, farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri, güvenliği ve etkinliği hakkında daha fazla bilgi sağlamak için daha büyük, niteliksel çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızın kısıtlılığı arasında ayrıca KPF 6 fajımızın morfolojik yapısının elektron mikroskopunda görüntülenememesi, fajın bakterilerin hangi bölgesini hedef aldığı ile ilgili sekans çalışmalarının yapılamaması ve faj tedavisinin invivo etkinlikleri için deney hayvanı araştırmaları sayılabilir.

İleri çalışmalarda, bakteriyofajların kullanılabilirliğini artırmak ve fajlara dirençli bakterilerin ortaya çıkmasını engellemek için, farklı suşlara karşı geniş spektrumlu etkinlik gösteren ve direnç mekanizmalarına karşı daha az duyarlılık geliştiren yeni fajlar, faj dirençli bakteriyel mutant riskinin üstesinden gelmek için faj kokteylleri veya genetiği değiştirilmiş fajların kullanımı gibi stratejiler araştırılabilir. Antibiyotik tedavileriyle kombinasyon halinde fajların kullanımı da yakın vadeli klinik gelişim için umut verici bir yol sunabilir.

Çalışmamızda hiçbir kurumdan destek almadan kendi imkanlarımız dahilinde yürütüldü.

KAYNAKLAR

- [1] WHO bacterial priority pathogens list, 2024, Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. (t.y.). Geliş tarihi 01 Haziran 2024, gönderen <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240093461>
- [2] Pendleton, J. N., Gorman, S. P., & Gilmore, B. F. 2013, *Clinical relevance of the ESKAPE pathogens*, Expert Review of Anti-infective Therapy, 11(3), 297-308. <https://doi.org/10.1586/eri.13.12>
- [3] Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K., & Carattoli, A., 2017, *Klebsiella pneumoniae: A major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance*, FEMS Microbiology Reviews, 41(3), 252-275. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux013>
- [4] Uyttebroek, S., Chen, B., Onsea, J., Ruythooren, F., Debaveye, Y., Devolder, D., Spriet, I., Depypere, M., Wagemans, J., Lavigne, R., Pirnay, J.-P., Merabishvili, M., Munter, P. D., Peetermans, W. E., Dupont, L., Gerven, L. V., & Metsemakers, W.-J., 2022, *Safety and efficacy of phage therapy in difficult-to-treat infections: A systematic review*, The Lancet Infectious Diseases, 22(8), e208-e220. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00612-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00612-5)
- [5] Prevention of antibiotic resistance – an epidemiological scoping review to identify research categories and knowledge gaps. (t.y.). Geliş tarihi 01 Haziran 2024, gönderen <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/16549716.2020.1756191?needAccess=true>
- [6] Ventola, C. L., 2015, *The Antibiotic Resistance Crisis*. Pharmacy and Therapeutics, 40(4), 277-283.
- [7] Pitout, J. D. D., Sanders, C. C., & Sanders, W. E., 1997, *Antimicrobial Resistance with Focus on β -Lactam Resistance in Gram-Negative Bacilli*. The American Journal of Medicine, 103(1), 51-59. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(97\)00044-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(97)00044-2)
- [8] Suttle, C. A., 2005, *Viruses in the sea*. Nature, 437(7057), 356-361. <https://doi.org/10.1038/nature04160>
- [9] Hung, C.-H., Kuo, C.-F., Wang, C.-H., Wu, C.-M., & Tsao, N., 2011, *Experimental Phage Therapy in Treating Klebsiella pneumoniae-Mediated Liver Abscesses and Bacteremia in Mice*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 55(4), 1358-1365. <https://doi.org/10.1128/aac.01123-10>
- [10] Cano, E. J., Caflisch, K. M., Bollyky, P. L., Van Belleghem, J. D., Patel, R., Fackler, J., Brownstein, M. J., Horne, B., Biswas, B., Henry, M., Malagon, F., Lewallen, D. G., & Suh, G. A., 2021, *Phage Therapy for Limb-threatening Prosthetic Knee Klebsiella pneumoniae Infection: Case Report and In Vitro Characterization of Anti-biofilm Activity*. Clinical Infectious Diseases, 73(1), e144-e151. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa705>

- [11] Schooley, R. T., Biswas, B., Gill, J. J., Hernandez-Morales, A., Hamilton, T., 2017, *Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant Acinetobacter baumannii Infection*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 61(10), 10.1128/aac.00954-17. <https://doi.org/10.1128/aac.00954-17>
- [12] Abd El-Aziz, A. M., Elgaml, A., & Ali, Y. M., 2019, *Bacteriophage Therapy Increases Complement-Mediated Lysis of Bacteria and Enhances Bacterial Clearance After Acute Lung Infection With Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa*. The Journal of Infectious Diseases, 219(9), 1439-1447. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy678>
- [13] İşlek Y., 2022, *Çok-İlacı-Dirençli Klebsiella pneumoniae ve Acinetobacter baumannii'ye Özgü Bakteriyofaj İzolasyonu ve Bu Fajların Biyofilme Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
- [14] Ashurst, J. V., & Dawson, A., 2024, *Klebsiella Pneumoniae*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>
- [15] *Etymologia: Klebsiella.*, 2010, Emerging Infectious Diseases, 16(9), 1418. <https://doi.org/10.3201/eid1609.ET1609>
- [16] Podschun, R., & Ullmann, U., 1998, *Klebsiella spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors*. Clinical Microbiology Reviews, 11(4), 589-603.
- [17] Pereira, L. A., & Santos, A. (Ed.), 2013, *Klebsiella infections: Epidemiology, pathogenesis and clinical outcomes*. Nova Biomedical.
- [18] Hakalehto, E., Humpi, T., & Paakkanen, H., 2008, *Dualistic acidic and neutral glucose fermentation balance in small intestine: Simulation in vitro*. Pathophysiology, 15(4), 211-220. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2008.07.001>
- [19] Martin, R. M., & Bachman, M. A., 2018, *Colonization, Infection, and the Accessory Genome of Klebsiella pneumoniae*, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2018.00004>
- [20] Merino, S., Camprubí, S., Albertí, S., Benedí, V. J., & Tomás, J. M., 1992, *Mechanisms of Klebsiella pneumoniae resistance to complement-mediated killing*, Infection and Immunity, 60(6), 2529-2535.
- [21] Paczosa, M. K., & Mecsas, J., 2016, *Klebsiella pneumoniae: Going on the Offense with a Strong Defense*, Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR, 80(3), 629-661. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15>
- [22] Mandell, L. A., Wunderink, R. G., Anzueto, A., Bartlett, J. G., Campbell, G. D., Dean, N. C., Dowell, S. F., File, T. M., Jr., Musher, D. M., Niederman, M. S., Torres, A., & Whitney, C. G., 2007, *Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults*, Clinical Infectious Diseases, 44(Supplement_2), S27-S72. <https://doi.org/10.1086/511159>

- [23] Ashurst, J. V., & Dawson, A., 2022, *Klebsiella Pneumoniae*, StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>
- [24] Effah, C. Y., Sun, T., Liu, S., & Wu, Y., 2020, *Klebsiella pneumoniae: An increasing threat to public health*, Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 19(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s12941-019-0343-8>
- [25] O'Farrell, N., 2002, *Donovanosis*. Sexually Transmitted Infections, 78(6), 452-457. <https://doi.org/10.1136/sti.78.6.452>
- [26] Neog, N., Phukan, U., Puzari, M., Sharma, M., & Chetia, P., 2021, *Klebsiella oxytoca and Emerging Nosocomial Infections*, Current Microbiology, 78(4), 1115-1123. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02402-2>
- [27] Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A., 1991, *More extended-spectrum beta-lactamases*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 35(9), 1697-1704. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.9.1697>
- [28] Yigit, H., Queenan, A. M., Anderson, G. J., Domenech-Sanchez, A., Biddle, J. W., Steward, C. D., Alberti, S., Bush, K., & Tenover, F. C., 2001, *Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of Klebsiella pneumoniae*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45(4), 1151-1161. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001>
- [29] Queenan, A. M., & Bush, K., 2007, *Carbapenemases: The Versatile β -Lactamases*, Clinical Microbiology Reviews, 20(3), 440-458. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07>
- [30] Medeiros, A. A., 1997, *Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics*, Clinical Infectious Disease, doi: 10.1093/clinids/24.supplement_1.s19.
- [31] Yong, D., Toleman, M. A., Giske, C. G., Cho, H. S., Sundman, K., Lee, K., & Walsh, T. R., 2009, *Characterization of a New Metallo- β -Lactamase Gene, blaNDM-1, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in Klebsiella pneumoniae Sequence Type 14 from India*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 53(12), 5046-5054. <https://doi.org/10.1128/AAC.00774-09>
- [32] Poirel, L., Özdamar, M., Ocampo-Sosa, A. A., Türkoglu, S., Ozer, U. G., & Nordmann, P., 2012, *NDM-1-Producing Klebsiella pneumoniae Now in Turkey*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 56(5), 2784-2785. <https://doi.org/10.1128/AAC.00150-12>
- [33] Walther-Rasmussen, J., & Høiby, N., 2006, *OXA-type carbapenemases*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 57(3), 373-383. <https://doi.org/10.1093/jac/dki482>
- [34] Poirel, L., Héritier, C., Tolün, V., & Nordmann, P., 2004, *Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in Klebsiella pneumoniae*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48(1), 15-22. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.15-22.2004>
- [35] Ah, Y.-M., Kim, A.-J., & Lee, J.-Y., 2014, *Colistin resistance in Klebsiella pneumoniae*, International Journal of Antimicrobial Agents, 44(1), 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.02.016>

- [36] Karami-Zarandi, M., Rahdar, H. A., Esmaeili, H., & Ranjbar, R., 2023, *Klebsiella pneumoniae: An update on antibiotic resistance mechanisms*, Future Microbiology, 18, 65-81. <https://doi.org/10.2217/fmb-2022-0097>
- [37] Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., & Morris, J. G., 2001, *Bacteriophage Therapy*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45(3), 649-659. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.649-659.2001>
- [38] Abedon, S. T., Thomas-Abedon, C., Thomas, A., & Mazure, H., 2011, *Bacteriophage prehistory: Is or is not Hankin, 1896, a phage reference?*, Bacteriophage, 1(3), 174-178. <https://doi.org/10.4161/bact.1.3.16591>
- [39] Duckworth, D. H., 1976, *Who discovered bacteriophage?* Bacteriological Reviews, ASM, 40(4),
- [40] Wittebole, X., De Roock, S., & Opal, S. M., 2014, *A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens*, Virulence, 5(1), 226-235. <https://doi.org/10.4161/viru.25991>
- [41] Ackermann, H.-W., 2012, *Chapter 1—Bacteriophage Electron Microscopy*, Advances in Virus Research (C. 82, ss. 1-32). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394621-8.00017-0>
- [42] Domingo-Calap, P., & Delgado-Martínez, J., 2018, *Bacteriophages: Protagonists of a Post-Antibiotic Era*, Antibiotics, 7(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7030066>
- [43] Díaz-Muñoz, S. L., & Koskella, B., 2014, *Bacteria–Phage Interactions in Natural Environments*, İçinde Advances in Applied Microbiology (C. 89, ss. 135-183). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800259-9.00004-4>
- [44] Lood, R., Ertürk, G., & Mattiasson, B., 2017, *Revisiting Antibiotic Resistance Spreading in Wastewater Treatment Plants – Bacteriophages as a Much Neglected Potential Transmission Vehicle*, Frontiers in Microbiology, 8. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02298>
- [45] Ackermann, H.-W., 2009, *Phage Classification and Characterization*, Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 1: Isolation, Characterization, and Interactions (ss. 127-140). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_13
- [46] Mansour, N.M., 2018. *Bacteriophages are natural gift, could we pay further attention!*. Journal of Food Microbiology, 2(1), 1-3.
- [47] Ackermann, H. W., 2011, *Bacteriophage taxonomy*, Microbiology Australia, 32(2), 90. <https://doi.org/10.1071/MA11090>
- [48] Bradley, D. E., 1967, *Ultrastructure of bacteriophage and bacteriocins*, Bacteriological Reviews, 31(4), 230-314.
- [49] Ackermann, H.-W., 2012, *Who went into phage research?*, Bacteriophage 2(1), 55-59. <https://doi.org/10.4161/bact.18680>

- [50] Hyman, P., & Abedon, S. T., 2012, *Smaller Fleas: Viruses of Microorganisms*, Scientifica, 2012, 734023. <https://doi.org/10.6064/2012/734023>
- [51] Batinovic, S., Wassef, F., Knowler, S. A., Rice, D. T., Stanton, C. R., Rose, J., Tucci, J., Nittami, T., Vinh, A., Drummond, G.R., Sobey, C.G., Chan, H.T., Seviour, R.J., Petrovski, S. and Franks, A.E., 2019. *Bacteriophages in natural and artificial environments*. Pathogens, 8(3), 100.
- [52] Altamirano, F. L. G., & Barr, J. J., 2019, *Phage Therapy in the Postantibiotic Era*, Clinical Microbiology Reviews. <https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18>
- [53] Furfaro L.L., Payne M. S., Chang B. J., 2018, *Bacteriophage Therapy: Clinical Trials and Regulatory Hurdles*, Cellular and Infection Microbiology. Geliş tarihi 28 Mayıs 2022, gönderen <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2018.00376/full>
- [54] Fanaei Pirlar, R., Wagemans, J., Ponce Benavente, L., Lavigne, R., Trampuz, A., & Gonzalez Moreno, M., 2022, *Novel Bacteriophage Specific against Staphylococcus epidermidis and with Antibiofilm Activity*, Viruses, 14(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/v14061340>
- [55] T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı (USHİESA) Etken Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Raporu 2022.
- [56] Kortright, K. E., Chan, B. K., Koff, J. L., & Turner, P. E., 2019, *Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria*, Cell Host & Microbe, 25(2), 219-232. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014>
- [57] Michodigni, N. F., Nyachio, A., Akhwale, J. K., Magoma, G., Ouédraogo, A.-S., & Kimang'a, A. N., 2022, *Formulation of phage cocktails and evaluation of their interaction with antibiotics in inhibiting carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in vitro in Kenya*, African Journal of Laboratory Medicine, 11(1), 1-8. <https://doi.org/10.4102/ajlm.v11i1.1803>
- [58] Peng, Q., Ma, Z., Han, Q., Xiang, F., Wang, L., Zhang, Y., Zhao, Y., Li, J., Xian, Y., & Yuan, Y., 2023, *Characterization of bacteriophage vB_KleM_KB2 possessing high control ability to pathogenic Klebsiella pneumoniae*, Scientific Reports, 13(1), 9815. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37065-5>
- [59] Lin, D. M., Koskella, B., & Lin, H. C., 2017, *Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance*, World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics, 8(3), 162-173. <https://doi.org/10.4292/wjgpt.v8.i3.162>
- [60] Kondo K., Satoshi N., Junzo H., Mitsuoki K., 2023, *Characterization of 29 newly isolated bacteriophages as a potential therapeutic agent against IMP-6-producing Klebsiella pneumoniae from clinical specimens*, Microbiology Spectrum. <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/spectrum.04761-22>
- [61] Gan, L., Fu, H., Tian, Z., Cui, J., Yan, C., Xue, G., Fan, Z., Du, B., Feng, J., Zhao, H., Feng, Y., Xu, Z., Fu, T., Cui, X., Zhang, R., Du, S., Liu, S., Zhou, Y., Zhang, Q., ... Yuan, J., 2022, *Bacteriophage Effectively Rescues Pneumonia Caused by Prevalent Multidrug-*

Resistant Klebsiella pneumoniae in the Early Stage, Microbiology Spectrum, 10(5), e02358-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02358-22>

[62] Martins, W. M. B. S., Li, M., Sands, K., Lenzi, M. H., Portal, E., Mathias, J., Dantas, P. P., Migliavacca, R., Hunter, J. R., Medeiros, E. A., Gales, A. C., & Toleman, M. A., 2022, *Effective phage cocktail to combat the rising incidence of extensively drug-resistant Klebsiella pneumoniae sequence type 16*, Emerging Microbes & Infections, 11(1), 1015-1023. <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2051752>

[63] Yoo, S., Lee, K.-M., Kim, N., Vu, T. N., Abadie, R., & Yong, D., 2023, *Designing phage cocktails to combat the emergence of bacteriophage-resistant mutants in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae*, Microbiology Spectrum, 12(1), e01258-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01258-23>

[64] Koskella, B., & Meaden, S., 2013, *Understanding Bacteriophage Specificity in Natural Microbial Communities*, Viruses, 5(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/v5030806>

[65] Bertozzi Silva, J., Storms, Z., & Sauvageau, D., 2016, *Host receptors for bacteriophage adsorption*, FEMS Microbiology Letters, 363(4), fnw002. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw002>

[66] Nang, S. C., Lu, J., Yu, H. H., Wickremasinghe, H., Azad, M. A. K., Han, M., Zhao, J., Rao, G., Bergen, P. J., Velkov, T., Sherry, N., McCarthy, D. T., Aslam, S., Schooley, R. T., Howden, B. P., Barr, J. J., Zhu, Y., & Li, J., 2024, *Phage resistance in Klebsiella pneumoniae and bidirectional effects impacting antibiotic susceptibility*, Clinical Microbiology and Infection, 30(6), 787-794. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.03.015>

[67] Hesse, S., Rajaure, M., Wall, E., Johnson, J., Bliskovsky, V., Gottesman, S., & Adhya, S., 2020, *Phage Resistance in Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae ST258 Evolves via Diverse Mutations That Culminate in Impaired Adsorption*, mBio, 11(1), 10.1128/mbio.02530-19. <https://doi.org/10.1128/mbio.02530-19>

[68] Labrie, S. J., Samson, J. E., & Moineau, S., 2010, *Bacteriophage resistance mechanisms*, Nature Reviews Microbiology, 8(5), 317-327. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2315>

[69] Seed, K. D., Faruque, S. M., Mekalanos, J. J., Calderwood, S. B., Qadri, F., & Camilli, A., 2012, *Phase Variable O Antigen Biosynthetic Genes Control Expression of the Major Protective Antigen and Bacteriophage Receptor in Vibrio cholerae O1*, PLOS Pathogens, 8(9), e1002917. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002917>

[70] Sumrall, E. T., Shen, Y., Keller, A. P., Rismondo, J., Pavlou, M., Eugster, M. R., Boulos, S., Disson, O., Thouvenot, P., Kilcher, S., Wollscheid, B., Cabanes, D., Lecuit, M., Gründling, A., & Loessner, M. J., 2019, *Phage resistance at the cost of virulence: Listeria monocytogenes serovar 4b requires galactosylated teichoic acids for InlB-mediated invasion*, PLOS Pathogens, 15(10), e1008032. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008032>

[71] Luong, T., Salabarria, A.-C., & Roach, D. R., 2020, *Phage Therapy in the Resistance Era: Where Do We Stand and Where Are We Going?* Clinical Therapeutics, 42(9), 1659-1680. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.07.014>

- [72] Roach, D. R., Sjaarda, D. R., Castle, A. J., & Svircev, A. M., 2013, *Host Exopolysaccharide Quantity and Composition Impact Erwinia amylovora Bacteriophage Pathogenesis*, Applied and Environmental Microbiology, 79(10), 3249-3256. <https://doi.org/10.1128/AEM.00067-13>
- [73] Wei, Y., Ocampo, P., & Levin, B. R., 2010, *An experimental study of the population and evolutionary dynamics of Vibrio cholerae O1 and the bacteriophage JSF4*, Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 277(1698), 3247-3254. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0651>
- [74] Gurney, J., Brown, S. P., Kaltz, O., & Hochberg, M. E., 2020, *Steering Phages to Combat Bacterial Pathogens*, Trends in Microbiology, 28(2), 85-94. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.10.007>
- [75] German, G. J., & Misra, R., 2001, *The TolC protein of Escherichia coli serves as a cell-surface receptor for the newly characterized TLS bacteriophage1*, Journal of Molecular Biology, 308(4), 579-585. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.4578>
- [76] Chan, B. K., Sistrom, M., Wertz, J. E., Kortright, K. E., Narayan, D., & Turner, P. E., 2016, *Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR Pseudomonas aeruginosa*, Scientific Reports, 6(1), 26717. <https://doi.org/10.1038/srep26717>
- [77] Piya, D., Vara, L., Russell, W. K., Young, R., & Gill, J. J., 2017, *The multicomponent antirestriction system of phage P1 is linked to capsid morphogenesis*, Molecular Microbiology, 105(3), 399-412. <https://doi.org/10.1111/mmi.13705>
- [78] Pawluk, A., Davidson, A. R., & Maxwell, K. L., 2018, *Anti-CRISPR: Discovery, mechanism and function*, Nature Reviews Microbiology, 16(1), 12-17. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.120>
- [79] Lin, J., Du, F., Long, M., & Li, P., 2022, *Limitations of Phage Therapy and Corresponding Optimization Strategies: A Review*, Molecules, 27(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/molecules27061857>
- [80] Wright, G. D., 2016, *Antibiotic Adjuvants: Rescuing Antibiotics from Resistance*, Trends in Microbiology, 24(11), 862-871. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.06.009>

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KPF-6 OLARAK İSİMLENDİRDİĞİMİZ Klebsiella pneumoniae'ye ETKİLİ BAKTERİYOFAJIMIZIN KAN KÜLTÜRLERİNDE ÜREYEN Klebsiella TÜRLERİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 1	% 0	% 1	% 0
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	westminsterresearch.westminster.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1
2	YÜCEL, Muhterem, YAVUZ, Tefik, KAYA, Demet, BEHÇET, Mustafa, ÖZTÜRK, C.Elif and ŞAHİN, İdris. "Pseudomonas aeruginosa izolatlarının antibiyotiklere direnç oranlarının yıllar içinde değişimlerinin izlenmesi", Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Derneği, 2006. Yayın	<% 1
3	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
4	BAYER, Müjgan, ASLAN, Gönül, EMEKDAŞ, Gürol, KUYUCU, Necdet and KANIK, Arzu. "Sağlıklı çocuklarda streptococcus pneumoniae'nin nazofarengeal taşıyıcılığı ve çoklu antibiyotik direnci", Mikrobiyoloji Derneği, 2008. Yayın	<% 1

ETİK KURUL İZİN YAZISI

Uyarı: Canlı denekler üzerinde yapılan tüm araştırmalar için Etik Kurul Belgesi alınması zorunludur.

- ☐ Etik Kurul izni gerekmektedir.
- ☒ Etik Kurul izni gerekmemektedir.

Nazrın ABİZADE
(İmza)



KURUM İZNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- ☐ Kurum izni gerekmektedir.
- ☒ Kurum izni gerekmemektedir.

Nazrın ABİZADE
(İmza)

