

Çeşitli Hastalık Materyallerinde Üreyen
Klebsiella Grubu Bakterilerin Tiplendirilmesi*

İnci TUNCER** Ayşe ERBOYACI*** Bülent BAYSAL**
Hatice ÖZENCİ****

ÖZET:

İdrar, dışkı, üst solunum yolu (boğaz,burun), cilt lezyonu, kulak akıntısı, safra ve kan örneklerinden üretilen gram negatif bakterilerden klebsiella özelliğine uyan 62 suş izole edilmiştir. Bunlara uygulanan biyokimyasal testlerin sonucunda 49'u (%79,3) Kl. pneumoniae, 9'u (%14,53) Kl. ozaenae, 2'si (% 3.22) Kl. rhinoscleromatis olarak değerlendirilmiştir. 2'sinin Klebsiella grubuna dahil olmasına karşılık türü tayin edilememiştir. 40 Klebsiella suşunun serolojik tip tayininde ise en çok tip 2(% 52,5) bulunmuştur.

SUMMARY

Identification of Klebsiella Strains Isolated From
Several Clinical Materials

62 isolated Klebsiella strains were cultivated from urine, stool, upper respiratory tract specimens (throat, phlegm), bile, skin lesions and blood specimens. In result of biochemical tests, 49(79,3%) of 62 strains were Kl. pneumoniae, 9(14,53%) Kl. ozaenae, 2(3,22%) Kl. rhinoscleromatis. Two Klebsiella strains were not determined.

In serological determination of 40 Klebsiella species type 2 have been found more than others.

* : Bu çalışma yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.
** : S.Ü.Tıp.Fak. Mikrobiyoloji ABD. Yrd. Doç. Dr. ve Doç. Dr. KONYA
*** : S.Ü.Tıp Fak. Mikrobiyoloji ABD. Biyolog KONYA
**** : A.Ü.Tıp Fak. Mikrobiyoloji ABD. Prof. Dr. ANKARA

GİRİŞ

Klebsiella grubu bakteriler insan ve hayvan barsak florasında, solunum sisteminde, ciltte, toprakta, meyva ve sebzelerde bulunurlar. Bu kadar yaygın bulunmaları nedeniyle infeksiyonlarına da sık rastlanmaktadır (1,2).

Enterobacteriaceae familyasından olan Klebsiella, Enterobacter ve Serratia cinsi bakteriler kısaca KES elemanları olarak tanımlanmakta ve özellikle hastane infeksiyonlarında ikincil patogen olarak en çok izole edilmektedirler (3,4). Ancak bu grubun üyeleri, Mac Conkey besiyerinde ürediklerinde benzer özellik gösterdiklerinden, ayırıcı tanıda çeşitli biyokimyasal ve serolojik testlerin kullanılması gerekmektedir (1,4,5).

Klebsiella'ların serolojik tiplendiriminde, bakterinin O (vücut) antijeninin hazırlanmasındaki teknik zorluklar ve diğer gram negatiflerle ortak antijen özelliklerine sahip olmaları nedeni ile K(kapsül) antijenlerinden yararlanılmaktadır (2,6).

Bu çalışmada, laboratuvarımızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen Klebsiella grubu bakterilerin türlerindeki görülme sıklığını belirlemeyi amaçladık.

MATERYAL VE METOD

1. Şubat.1987-1.Ocak.1988 tarihleri arasında, Selçuk Ün. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı rutin laboratuvarında, idrar, dışkı, üst solunum yolu (boğaz.balgam), cilt lezyonu, kulak akıntısı, safra ve kan gibi değişik örneklerden yararlanıldı.

Bütün örnekler ilk izolasyon için % 5 koyun kanlı agar ve

Mac Conkey besiyerlerine ekildi. 37°C de 18-24 saat inkübas-yondan sonra Klebsiella şüpheli koloniler ayrıldı. Bu koloni-lere gram boyama, oksidaz, katalaz testleri uygulandıktan sonra Enterobacteriaceae familyasından oldukları belirlendi. Daha sonra biyokimyasal tür tayini için; gins(çini mürekkebi) boyama, hareket, asit ve gaz oluşumu (TSI), Voges-Proskauer (VP), Metil-Kırmızısı (MR), sitrata etki, üreaz varlığı, indol oluşumu, malonat'a etki, KCN'de üreme, Ornithine Decarboxylase (ODC) testi, şeker testleri (Arabinose, Rhamnose, Glucose, Saccarose, Lactose, Raffinose, Salicine, Dulcitol, Mannitol), ayrıca karbonhidrat olmayan İnositol'e etkileri incelendi(7). Uygulanan bu testlerin sonunda biyokimyasal tiplendirme, Kli-nik Mikrobiyoloji (2) ve Bergey's Manual'in 8. baskısındaki (8) bilgiler esas alınarak yapıldı. Serolojik tip tayini için kapsül tipi 1-72,74,76,80,81 olan 76 adet standart Klebsiella suşundan hazırlanan antiserumlarla kapsül şişme reaksiyonu uygulandı (6).

BULGULAR

Değişik klinik örneklerden üretilen gram negatif bakteri-lerden Klebsiella özelliğine uyan 62 suş ayırd edilmiştir. Bunların biyokimyasal test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiş-tir. Bu testlerin uygulanması sonucunda tür tayini yapılmış olup, Klebsiella'ların türlere göre dağılımı ile izole edil-dikleri yerler Tablo 2'de sunulmuştur. 62 Klebsiella suşunun 49'u Kl. pneumoniae (%79,03), 9'u Kl. ozaenae (%14,53), 2'si ise Kl. rhinoscleromatis (%3,22) olarak değerlendirilmiştir. 2'sinin ise Klebsiella grubuna dahil olmasına karşılık türü tayin edilememiştir.

İzole edilen Klebsiella'ların 40'ında yapılan serolojik tiplendirmede ise en çok tip 2(% 52,5) bulunmuştur. Kapsül

TABLO 1- Üretilen 62 Klebsiella suşunun biyokimyasal test sonuçları.

	<u>Pozitif</u>	<u>Negatif</u>	<u>Pozitif %'si</u>
Hareket	-	62	-
TSI(H ₂ S oluşumu)	-	62	-
İndol	3	59	4.83
Simmons sitrat	61	1	98.38
Üreaz	53	9	85.48
Metil Kırmızısı (MR)	10	52	16.12
Voges-Proskauer(VP)	49	13	79.03
Katalaz	62	-	100,
Oksidaz	-	62	-
Malonate	54	8	87.09
KCN'de üreme	62	-	100.
Ornithine Decarboxylase(ODC)-	-	62	-
Glucose'dan asit	62	-	100.
Glucose'dan gaz	51	11	82.26
Lactose	54	8	87.09
İnositol	55	7	88.71
Dulcitol	12	50	19.35
Sucrose	56	6	90.32
Arabinose	57	5	91.93
Mannitol	56	6	90.32
Rhamnose	56	6	90.32
Raffinose	60	2	96.77
Salicin	59	3	95.16

tipi 15,16,21,23,25,37 ve 40'tan birer tane saptanmıştır. 12' si tiplendirilememiştir. Sonuçlar Tablo 3'de sunulmuştur.

TABLO 2- Klebsiella suşunun izole edildikleri yerler ve türlere göre dağılımı.

Türleri	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella ozaenae	Klebsiella rhinoscle-romatis	Tiplen-dirile-meyen	Toplam	% si
İdrar	31	6	-	2	39	62.9
Dışkı	10	1	1	-	12	19.5
Cilt Lezyonu	2	-	-	-	2	3.2
Üst Solunum Yolu	Boğaz	3	1	1	5	8.0
	Balgam	-	1	-	1	1.6
Kulak Akıntısı	1	-	-	-	1	1.6
Safra	1	-	-	-	1	1.6
Kan	1	-	-	-	1	1.6
TOPLAM	49	9	2	2	62	100.

TABLO 3- 40 adet Klebsiella suşunun serolojik tipi ve izole edildikleri yerlere göre dağılımı.

Yerler Kapsül T.	İdrar	Dışkı	Cilt Lezyonu	Boğaz	Kulak Akıntısı	Safra	Toplam
2	16	2	1	1	1	-	21
15	-	1	-	-	-	-	1
16	1	-	-	-	-	-	1
21	1	-	-	-	-	-	1
23	1	-	-	-	-	-	1
25	1	-	-	-	-	-	1
37	-	-	1	-	-	-	1
40	1	-	-	-	-	-	1
Tiplendi- rilemeyen	7	4	-	-	-	1	12
TOPLAM	28	7	2	1	1	1	40

TARTIŞMA

Klinik olgularda oldukça sık rastlanan Klebsiella grubu bakterilerin tür ayrımının yapılması ve sıklıklarının saptanması epidemiyolojik açıdan önem taşımaktadır. Klebsiella'ların serolojik olarak kapsül şişme yöntemi ile değerlendirilmesi çok titiz bir çalışmayı gerektirmektedir. Eğitilmiş kişiler yada araştırmacılara gereksinim vardır. Bu nedenle Klebsiella'ların serolojik tip tayini belli başlı merkezlerde yapılmaktadır. Çoğunlukla da biyokimyasal tiplendirmeden yararlanılmaktadır (1,2,3,5).

Enterobacteriaceae familyasının üyelerinin ayrımında IMVC testleri esastır. Ancak Klebsiella cinsini diğerlerinden ayırma da yeterli değildir ve ilave olarak en azından hareket ve ODC testleri yapılmalıdır. Bununla birlikte bu değerler % 100 sonuç vermemekte ve bazı sapmalar gözlenmektedir. Bu nedenle tiplendirmede birçok biyokimyasal testin uygulanması ve beraberinde serolojik tipinin tayin edilmesi en uygun olanıdır (1,4,9,10,11).

Klebsiella pneumoniae primer olarak Klebsiella pnömoni-sinden sorumlu olup, balgamdan izole edilirse de buna ek olarak üriner sistem, yara infeksiyonları, bakteriyemi ve menenjit etkeni de olurlar (2,12,13,14). Torre ve ark. (15)'nin yaptıkları bir çalışmada bakteriyemili hastaların % 23'ünde Klebsiella cinsi bakteri üretilmiş ve bunların % 75'inin Kl. pneumoniae olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar Kl. ozaenae'nin kronik atrofik rinitten sorumlu olduğunu ancak farklı kaynaklardan da izole edildiğini belirtmişler ve ayrıca yine bazı süregen bronşitli ve rinitli hastalarda, Kl. ozaenae ve Kl. rhinoscleromatis'in uzun zaman kaldığını bildirmişlerdir (2,6,14,16). Kl. pnömoniae ile böyle bir süregenlik bildirilmemiştir

(6,17). Bir çalışmada kornea absesinden *Kl.ozaenae* izole edilmiştir (18). Çeşitli araştırmacılar *Klebsiella* biyotiplerinde sıra ile ençok *Kl.pneumoniae*, ikinci sıklıkta *Kl.ozaenae* ve daha az olarak *Kl.rhinoscleromatis*'i bulmuşlardır (1,6). Bizde çalışmamızda ençok *Kl.pneumoniae* (%79.03) ve sıra ile *Kl.ozaenae* (%14,5), *Kl.rhinoscleromatis*'i (%3.2) saptadık.

Enterobacteriaceae familyasını diğerlerinden ayırmada, yardımcı bir test olarak kullanılan katalaz ve oksidaz test aynı zamanda erken tanıya götürdüğü için pratiktir (19). Çalışmamızda katalaz test sonuçları bütün suşlarda pozitif (%100), oksidaz test ise negatif (%100) bulunmuştur.

Klebsiella'ların hareketsiz olması, bu bakterileri *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerden ayıran en önemli özelliktir. *Shigella* ile karışmayacak kadar farklı özelliklere sahip oldukları halde, *Escherichia coli* ve *Enterobacter*'in hareketsiz suşlarından kesin ayrımının dikkatlice yapılması gereklidir (1,2,20). Araştırmacılar *Klebsiella*'ların TSI besiyerinde H_2S oluşturmadıklarını bildirmişlerdir (5). Bizim çalışmamızda da 62 suşun tamamı hareketsiz olup, TSI'da H_2S oluşturmuşlardır.

Klebsiella grubu bakterilerin sitrat besiyerinde üremesi ve bu özelliği ile *Escherichia coli*'den ayrılması tanıda kolaylık sağlamaktadır (3,20,21). Bulgularımızda sitrat besiyerinde üreme % 98,4 oranında pozitif olarak saptanmıştır.

Yayınlarda üreaz pozitifliği % 90-94,5 gibi değişik oranlarda ifade edilmektedir (1,22). Bu çalışmada ise üreaz %85,5 oranında pozitif bulunmuştur.

Çeşitli araştırmacılar, *Klebsiella* grubu bakteriler için Malonat test sonucunu *Kl.ozaenae* hariç, diğerlerinde pozitif olarak belirtmektedirler (5). Bayrı ve ark.(1) çalışmalarında malonat testi % 99,1 pozitif bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda malonata etki % 87,1 olarak gözlenmiştir.

Klebsiella'ların KCN besiyerinde, üremeleri, bu bakterileri E.coli'den ayırmada önemli bir testtir. Ancak diğer özelliklerindeki incelenmesi ile daha sağlıklı sonuca varmak mümkündür (2,25). Suçlarımızın tamamı KCN besiyerinde üremiştir.

ODC reaksiyonu, Klebsiella bakterileri için daima negatiftir. Bu özellikleri ile Enterobacteriaceae ailesinin diğer üyelerinden ayırmada kullanılabilen en güvenilir testlerden birisidir (1,9,20). Bizim çalışmamızda da ODC %100 negatif bulunmuştur.

Mannitol ve glikoza etki Klebsiella tanımında değerli bir yöntem olup bu gruptaki bakteriler genellikle her ikisini de kullanırlar. Çeşitli araştırmacıların çalışmalarında diğer şeker testlerindeki çoğunlukla pozitif oldukları ancak bazılarının değişken oldukları belirtilmektedir (1,2,22). Bizim çalışmamızda da glikoz'dan asit oluşumu % 100, Rafinoz % 96,7; Salisin % 95,2; Arabinoz'dan asit oluşumu % 91,9; Sükroz, Mannitol, Ramnoz'dan asit oluşumu % 90,3; İnozitol % 88,7; Glikoz'dan gaz oluşumu % 82,3 pozitif sonuç vermiştir.

Çeşitli araştırmacıların tür tayini ile ilgili yaptıkları çalışmalarında tiplendirilemeyen suşların yüzdelere bakıldığında % 6,4 ile % 29 arasında değişen oranlar göze çarpmaktadır (26,27). Çalışmamızda da biyokimyasal testlerin incelenmesi sonucunda 62 Klebsiella suşumuzun 2'sinin (%3,2) türü tayin edilememiştir.

Epidemiyolojik çalışmalarda biyokimyasal tür tayini yanında genellikle tercih edilen ve en çok kullanılan serotiplendirilmedir (1,6). Çalışmamızda izole edilen Klebsiella grubu bakterilerden 40'ına uygulanan serolojik tiplendirme sonucunda en çok kapsül tip 2(%52,5); 15,16,21,23,25,37,40'tan birer tane bulunmuştur.40 suşun 12'si ise(%30) tiplendirilememiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda çeşitli hastalık örneklerinden üretilen Klebsiella grubu bakterilerde birinci sırayı Kl.pneumoniae, ikinci sırayı Kl.ozaenae ve üçüncü sırayı da Kl.rhinoscleromatis almıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Bayrı,G., Günalp,A.: Klinik olgulardan izole edilen Klebsiella grubu bakteriler üzerinde bir çalışma. Mikrobiyol. Bült, 11,3,371-384, 1977.
- 2- Bilgehan,H.: Klinik Mikrobiyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları. Bilgehan Basımevi, Bornova, İzmir, 1986.
- 3- Finlayson,M.H., Coates,J.K., Coldrey,N.A.:Differentiation of Klebsiella-Enterobacter-Serratia Organisms.S.Afr.Med. J. 49, 123-124, 1975.
- 4- Oberhofer,T.R., and Hajkowski,R.: Evaluation of Non-Lactose-Fermentinf Members of the Klebsiella-Enterobacter-Serratia Division: I. Biochemical Characteristics. Amer. J.Clin.Pathol. 54, 720-725, 1970.
- 5- Sonnenwirth,A.C., Jarett,L.: Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis.Vol.I.The C.V.Mosby Company, Saint Louis, 1980.
- 6- Özenci,H.: Ankara'da Çeşitli Kaynaklardan Soyutlanan Klebsiella'ların Biyotipleri, Serotipleri, Antibakteriyellere İn Vitro dirençlilikleri ve Dirençliliklerinin R Plazmidleri ile ilişkileri. Doçentlik Tezi,A.Ü.Tıp Fak. Ankara, 1979.
- 7- Çetin, E.T., Töreci,K., Anđ,Ö.: Genel ve Pratik Mikrobiyoloji.3.Baskı,Sermet Matbaası,İstanbul,1973.
- 8- Buchanan,R.E., and Gibbons,N.E.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Eight Ed. The Williams and Wilkins Company. Baltimore, 1975.

- 9- Campbell,L.M., and Roth,I.L.: Methyl Violet: a Selective Agent for Differentiation of Klebsiella pneumoniae from Enterobacter aerogenes and other Gram-Negative organism. Appl. Microbiol, 30, 258-261, 1975.
- 10- Tuncer,İ., Özsan,K.: Değişik Klinik Örneklerden Üretilen Enterobacter'lerin Biyokimyasal Tip Tayini. Mikrobiyol. Bült. 22,2,105-112, 1988.
- 11- Zabransky,R.J., Hall,J.W., Day, F.E., and Neelham,G.M.: Klebsiella-Enterobacter, and Serratia: Biochemical Differentiation and Susceptibility to Ampicillin and Three Cephalosporin Derivates. Appl. Microbiol. 18, 198-203, 1969.
- 12- Çetin,E.T., Ergenç,H., Töreci,K., Anğ,Ö., Tamkan,A.: Çocuklarda Pürülan Menenjit Etkeni olan Bakteriler. İst. Tıp Fak. Mecm. 36, 890-897, 1973.
- 13- Gönen,T., Bostancıoğlu,Ş., Aral,A., Okkan,S.: Bir Klebsiella pneumoniae Menenjitisi'ni Vakası. Ankara Hast. Derg. 2,3,219-223, 1967.
- 14- Joklik,W.K., Willet,H.P., Amos,D.B.: Zinsser Microbiology, 18. Ed. Appleton-Century-Crofts/Norwalk, Connecticut, 1984.
- 15- Torre,M.G., Romero-Vivas,J., Martinez-Beltran,J., Guerrero,A., Meseguer,M., and Bouza,E.: Klebsiella Bacteriemia: An analysis of Episodes. Reviews of Inf. Dis. 7,2,143-150, March-Apr. 1985.
- 16- White,L., McCoy,R., Tait,B., and Ebringer,R.: A search for Gram-Negative Enteric Micro-organisms in Acute Anterior Uveitis. Association of Klebsiella with recent onset of disease, HLA-B27, and B7. British J. of Ophthalm. 68, 750-755, 1984.

- 17- Malowany, M.S., Chester, B.: Isolation and Microbiologic Differentiation of *Klebsiella rhinoscleromatis* and *Klebsiella ozaenae* in Cases of Chronic Rhinitis. *Amer.J. Clin.Path.* 58, 550-553, 1972.
- 18- Janda, W.M., Hellerman, D.V., Zeiger, B., and Brody, B.B.: Isolation of *Klebsiella ozaenae* from a Corneal Abscess. *Acta.J.Q.Path.* 83, 5, 655-657, 1985.
- 19- Tilton, R.C., Murphy, J.R., and Soestbergen, A.V.: *Erwinia* Species from Human Sources. *Amer.J.Clin.Pathol.* 56, 187-192, 1971.
- 20- Matsen, J.M., and Bilazevic, D.J.: Characterization of the *Klebsiella-Enterobacter* Groups. *Appl. Microbiol.* 18, 566-569, 1969.
- 21- Class, O., and Digranes, A.: Rapid Identification of Prompt Lactose-Fermenting Genera Within the Family *Enterobacteriaceae*. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Section B.* 79, 673-678, 1971.
- 22- Edwards, P.R., Ewing, W.H.: The *Klebsiella* and *Aerobacter* Groups. 207-219, *Identification of Enterobacteriaceae*. Burgess Publishing, Minneapolis, 10, 1962.
- 23- Brown, C., Seidler, R.J.: Potential Pathogens in the Environment: *Klebsiella pneumoniae*, a Taxonomic and Ecological Enigma. *Appl. Microbiol.* 25, 900-904, 1973.
- 24- Kasımoğlu, Ö., Hacıhanefioğlu, V., Yakacıklı, Ş.: *Klebsiella* Pnömonileri. *Tıp Fak. Mecm. İstanbul*, 37, 270-282, 1974.
- 25- Wilson, G.S., Miles, A.A., Parker, M.T.: *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity*. 7. Ed. Vol. 2. Edward Arnold, 1983.

- 26- Rennie,R.P., and Duncan,B.R.: Combined Biochemical and Serological Typing of Clinical Isolates of Klebsiella. Appl.Microbiol.28,4,534-539,1974.
- 27- Riser,E., Noone,P., and Bonnet,M.L.: A new Serotyping Method for Klebsiella Species:Evaluation of the Technigue. J.Clin.Pathol.29, 305-308, 1976.
