ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KLİNİK PROTEUS İZOLATLARINDA KÜMELENMİŞ KODLANAN GEN İFADELERİ ÜZERİNE NANOPARTİKÜLLERİN ETKİLERİ ÇALIŞMASI

Husain Awad Bneed BNEED

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2023

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Husain Awad Bneed BNEED tarafından hazırlanan **"Klinik Proteus İzolatlarında Kümelenmiş Kodlanan Gen İfadeleri Üzerine Nanopartiküllerin Etkileri Çalışması"** adlı tez çalışması 16/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Marwa Hameed ALKHAFAJI

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Biyoloji
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mine TÜRKTAŞ
Biyoloji
Gazi Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Serkan GÜLSOY
Orman Mühendisliği Bölümü
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Ebru ÖZDENİZ
Biyoloji
Yıldız Teknik Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL
Orman Mühendisliği Bölümü
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Klinik Proteus İzolatlarında Kümelenmiş Kodlanan Gen İfadeleri Üzerine Nanopartiküllerin Etkileri Çalışması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (16/01/2023).

Husain Awad Bneed BNEED

ÖZET

Doktora Tezi

KLİNİK PROTEUS İZOLATLARINDA KÜMELENMİŞ KODLANAN GEN İFADELERİ ÜZERİNE NANOPARTİKÜLLERİN ETKİLERİ ÇALIŞMASI

Husain Awad Bneed BNEED

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Marwa Hameed ALKHAFAJI

Çalışmamızda, nanopartiküllerin (özellikle gümüş nanopartiküller) *P. mirabilis* ve *P. vulgaris*'te FliL ve UmoD genlerinin ekspresyonu üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu sebeple Thi-Qar ili/Irak'taki AL-Hussein Eğitim Hastanesinde bulunan idrar yolu enfeksiyonu (60 hasta) ve yara enfeksiyonu (40 hasta) olan toplam 100 hastadan örnek alınmıştır. Örnekler Mayıs 2020-Mayıs 2021tarihleri rasında toplanmıştır. Bakteri türlerinin teşhisi; morfolojik özellikler, biyokimyasal testler ve PCR tekniği ile belirlenmiştir. Ag nanopartiküllerin antibakteriyel aktiviteleri seri dilüsyon (2,5, 5, 7,5, 10, 12,5, 15, 17,5, 20, 22,5, 25) kullanılarak incelenmiştir. Ag nanopartiküller, *P. mirabilis* ve *P. vulgaris*'in büyümesine karşı 9 mg/mL minimum inhibe edici konsantrasyona sahiptir. Yara ve İYE örneklerinden izole edilen *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatları UmoD ve RffG genleri için pozitif sonuç vermiştir. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarında *Proteus* izolatlarının tamamının ampisilin, siprofloksasin ve amoksisilin/klavulanik asit'e dirençli (% 100) olduğunu, *Proteus* türlerinin yaklaşık % 95'inin ise seftriaksone ve Imipenem'e duyarlı olduğunu göstermiştir.

2023, 71 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Ag nanopartikül, *P. mirabilis, P. vulgaris,* PCR, Gen ifadesi

ABSTRACT

PhD Thesis

STUDY OF NANOPARTICLES EFFECT ON THE SWARMING CODING GENE EXPRESSION İN THE CLINICAL PROTEUS ISOLATES

Husain Awad Bneed BNEED

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

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Melda DÖLARSLAN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Name SURNAME

In our study, it is aimed to control the computers on the FliL and UmoD genes of nanoparticles (highly silver nanoparticles) in *P. mirabilis* and *P. vulgaris*. On this occasion, samples were taken from a total of 100 patients with airway infections (60 patients) and wound infections (40 patients) at AL-Hussein Teaching Hospital in Thi-Qar province/Iraq. Samples were collected between May 2020 and May 2021. Bacterial examination; It was aimed with morphological features, biochemical tests and PCR technique. Antibiotics of Ag nanoparticles are using serial dilution (2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25). Ag nanoparticles have a minimum inhibitory potency of 9 mg/mL against producers of *P. mirabilis* and *P. vulgaris*. Positive results were obtained for UmoD and RffG genes of *P. mirabilis* and *P. vulgaris* isolates isolated from wound and UTI samples. Antibiotic preservative test results revealed that all Proteus isolates were resistant (100%) to ampicillin, ciprofloxacin, and amoxicillin/clavulanic acid, and approximately 95% of Proteus expenditure was sensitive to ceftriaxone and Imipenem.

2023, 71 pages

Keywords: Ag Nanoparticles, Gene expression, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, PCR

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Öncelikle değerli aileme (babam, annem ve eşim), eğitim hayatım boyunca gösterdikleri destekleri ve yardımları için şükranlarımı sunarım.

Kıymetli danışmanım Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a, göstermiş olduğu saygı, sabır ve yönlendirmelerinden dolayı teşekkür ederim.

Son olarak, eğitim hayatım boyunca bana destek olan ve yardımcı olan kardeşlerime ve herkese teşekkür etmek istiyorum.

Allah hepinizden razı olsun.

Husain Awad Bneed BNEED

Çankırı, Ocak 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 Proteus Türleri **3**
2.2 *Proteus mirabilis*'in Karakterizasyonu **4**
2.3 İdrar Yolu Enfeksiyonları **4**
2.4 Yara Enfeksiyonu ve Proteus Spp. **6**
2.5 *Proteus mirabilis*'in Virülans Faktörü ve Patojenleri **6**
2.6 Proteus Türlerinde Antimikrobiyallere Direnç **8**
2.7 Nanopartiküller **9**
2.7.1 Nanopartikül türleri **11**
2.7.2 Gümüş nanoparçacıklar **12**
2.8 Kümelenme Hareketliliği **14**
2.9 Tedavi **18**
3. MATERYAL VE METOT **20**
3.1 Materyal **20**
3.1.1 Makine ve teçhizatlar **20**
3.1.2 Kimyasal maddeler **21**
3.1.3 Kültür ortamı **21**
3.1.4 Kitler **21**
3.1.5 Primerler **22**
3.2 Yöntem **22**
3.2.1 Medya **22**

3.2.2 Sterilizasyon 22
3.2.3 Solüsyonlar, reaktifler ve boyalar 23
3.2.4 Örnek toplama 23
3.2.5 İzolasyon 24
3.2.6 İzolatların tanımlanması 24
3.2.7 Biyokimyasal testler 25
3.2.8 Antimikrobiyal duyarlılık testi 25
3.2.9 Moleküler tanı 26
3.2.10 Gümüş nanopartikül miktarı 28
3.2.11 Gerçek zamanlı PCR 29
3.3 İstatistiksel Analiz 33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 34
4.1 Bakteriyel İzolasyon ve Tanımlama 34
4.2 Mikroskobik ve API 20E Sistemi ile Teşhis 35
4.3 Antibiyotik Duyarlılık Testi 37
4.4 Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Tayini 37
4.5 Moleküler Tanı 38
4.6 Gen İfadesi 39
4.6.1 FliL gen ifadesi için qPCR sonuçları 39
4.6.2 Proteus izolatlarında FliL geninin ifadesi 40
4.6.3 UmoD gen ifadesi için qPCR sonuçları 42
4.6.4 İYE örneklerinde UmoD geninin ifadesi 42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 44
5.1 Bakteri İzolasyonu ve Teşhisi 44
5.2 Antibiyotik Duyarlılık Testi 45
5.3 Ag Nanopartiküllerin Antibakteriyel Aktivitesi 46
5.4 UmoD ve RffGD'nin PCR Tespiti 47
5.5 Proteus İzolatlarında FliL ve UmoD Gen İfadesi 48
5.6 Nanopartiküllerin FliL ve UmoD Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi 48
KAYNAKLAR 52
ÖZGEÇMİŞ 71

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
℃	Santigrat derece
L	Litre
mL	Mililitre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

KISALTMALAR DİZİNİ

AgNP	Gümüş nanopartiküller
AMR	Antimikrobiyal direnç
CE	Eşlenik öğeler
DNA	Deoksiribonükleik asit
DW	Arıtılmış su
EDTA	Etilen diamintetra asetik asit
FDA	Amerikan gıda ve ilaç idaresi
IS	Ekleme dizileri
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
MGE	Mobil genetik elemanlar
MgO	Manganez oksit
NP	Nanopartiküller
PBS	Fosfat tamponlu salin
PCR	Polimeraz zincirleme reaksiyonu
SD	Standart sapma
TiO_2	Titanyum dioksit
ZnO	Çinko oksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Proteus türlerinin MacConkey agar üzerinde gelişimi 34
Şekil 4.2 Proteus türlerinin kanlı agar üzerinde gelişimi 35
Şekil 4.3 *P. mirabilis*'in API 20E yöntemi kullanılarak tespiti 36
Şekil 4.4 Yara ve İYE örneklerinden izole edilen Proteus türleri ve yüzdeleri 36
Şekil 4.5 *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatlarının bazı antibiyotik disklerine karşı antibakteriyel direnci 37
Şekil 4.6 UmoD ve RffGD genlerinin amplifikasyonu 39
Şekil 4.7 *P. vulgaris*'te FliL genlerinin bağıl ifadesi 41
Şekil 4.8 *P. mirabilis*'te FliL genlerinin bağıl ifadesi 41
Şekil 4.9 *P. mirabilis*'te UmoD genlerinin bağıl ifadesi 43
Şekil 4.10 *P. vulgaris*'te UmoD genlerinin bağıl ifadesi 43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan makine ve teçhizatlar 20
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler 21
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan kültür ortamları 21
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan kitler 22
Çizelge 3.5 UmoDD ve RffGD genlerini çoğaltmak için kullanılan primerler 22
Çizelge 3.6 UmoD gen programı 27
Çizelge 3.7 RffGD gen programı 27
Çizelge 3.8 cDNA reaksiyon bileşeni 31
Çizelge 3.9 FliL, UmoD ve rpoA genlerini primer dizilerini 32
Çizelge 3.10 RT-PCR'nin reaksiyon bileşeni 32
Çizelge 3.11 qPCR programı 32
Çizelge 4.1 Yara ve İYE örneklerinde izole edilen bakteri kültürünün yüzdesi 35
Çizelge 4.2 *P. mirabilis*'e karşı AgNP'ler için MİK değerleri 38
Çizelge 4.3 *P. vulgaris*'e karşı AgNP'ler için MİK değerleri 38
Çizelge 4.4 Proteus izolatlarında UmoD ve RffGD genlerinin dağılımı 38
Çizelge 4.5 Proteus türlerinde FliL gen değişimi 40
Çizelge 4.6 Proteus türlerinde UmoD gen değişimi 42

1. GİRİŞ

İdara yolu enfeksiyonu, tedavi edilebilen fakat bazen ölümcül olabilen enfeksiyonlardır. Ürolitiyazis oluşumu; idrar yolu bloğu, idrar yolu enfeksiyonları, mesane taşları ve böbrekler-bakteriüri dahil olmak üzere kateterli ve katetersiz hastalarda görülebilir (Hasan and Al-Harmoosh 2020).

Motilite, *P. mirabilis*'te idrar yolu sistemindeki istila ve enfeksiyon dağılımını etkileyen en önemli virülans faktörlerinden biridir (Kuan *et al.* 2014). Kümelenme hareketliliği, genlerin karmaşık sinyal iletimi ve düzenlenmesidir (Armbruster and Mobley 2012).

İYE şiddeti, farklı virülans faktörlerin ekspresyonuna, biyofilm üretimine ve çok sayıda antibiyotik türüne karşı direnç ekspresyonuna göre *P. mirabilis* ile enfekte olmasından kaynaklanır (Nucleo *et al.* 2010).

Proteus spp. enfekte olmuş dokuların yapışmasına, büyümesine, kolonizasyonuna ve istilasına ve bu nedenle patogenezin gelişmesine yardımcı olan çok sayıda virülans faktörüne sahiptir (Al-Isawi 2011).

Nanoparçacıklar, nanoteknolojinin zorunlu bir alanıdır (Khan *et al.* 2019). Metalik nanoparçacıklar, çoklu ilaca dirençli bakterilerin mikrobal direncini yenmek için en iyi alternatiflerden biri haline gelmiştir (Huh and Kwon 2011). Nanogümüş, mantarların yanı sıra çok sayıda Grampozitif ve Gramnegatif bakteriler için inhibitör etki yapmıştır (Saeb *et al.* 2014). Ayrıca gümüş nanopartiküller, bakterilerde çok çeşitli tedaviler üzerinde güçlü baskılayıcı etkileri olan toksik olmayan antibakteriyel malzeme' olarak bilinir (Yin *et al.* 2020).

Gümüş nanopartiküllerin hem idrar yolu enfeksiyonu hem de yanık enfeksiyonundaki ilaç direncindeki artışla bağlantılı olan bakteri türleri *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* üzerindeki etkisini saptamayı amaçlamaktadır. Bu amaçla, hastaların idrarlarından bakteri izole edilerek *P. mirabilis* olup olmadığının belirlenmesi, *P. mirabilis* ve *P. vulgaris*'in UmoD

ve RffG genlerine sahip olup olmadığının araştırılması ve *P. mirabilis* ve *P. vulgaris*'te gümüş nanoparçacıkları ile muameleden sonra FliL ve UmoD genlerinin ifadesi araştırılacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Proteus Türleri

Enterobactericeae familyasında yer alan Proteus bakterileri Gram negatif, 1-3x0,4-0,6 mikron boyutlarında, bazen daha uzun ya da kokobasil görünümünde, sporsuz ve kapsülsüz bakterilerdir. Toprakta, suda ve dışkıyla kontamine materyallerde bulunurlar. En yaygın olarak bilinen türleri, *P. mirabilis, P. vulgaris, P. penneri, P. hauseri, P. terrae* ve *P. cibarius*'tur (Hamilton *et al.* 2018).

P. mirabilis hayvan bağırsaklarında, suda ve toprakta yaygın olarak bulunur. Sağlıklı bir insan bağırsağındaki floranın yüzde 0,005'inden azı bu bakterilerden oluşmaktadır (Yatsunenko *et al.* 2012, Drzewiecka 2016, Gong *et al.* 2019). Sistit, sepsis, peritonit ve menenjit gibi hastalıklara, bağışıklık sistemi tehlikeye girdiğinde sindirim sisteminin dışında *P. mirabilis* neden olmaktadır (Jain *et al.* 2016). *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'den sonra, insanlarda İYE'den sorumlu üçüncü en yaygın bakteri *P. mirabilis*'tir (Cao *et al.* 2009). Bebeklerde görülen nozokomiyal enfeksiyonlar da bu bakteri ile ilişkilendirilmiştir (Jain *et al.* 2016).

Proteus gıda kaynaklı bir patojen olmamasına rağmen, *P. mirabilis* ishal ve kusmaya neden olabilir ve bu da onu insandaki sindirim sistemi için ciddi bir tehdit haline getirebilir (Gong *et al.* 2019).

Genomik karşılaştırmalara dayanarak, *P. mirabilis*, yatay gen transferi yoluyla diğer mikroorganizmalardan toksin genleri alabilir ve bu da sindirim sisteminde enfeksiyona ve toksisiteye yol açabilir (Shi *et al.* 2016). Bu fırsatçı enfeksiyonun, hayvan popülasyonları için artan bir risk oluşturduğu bilinmektedir (Pattanayak *et al.* 2018).

Enterobacteriaceae familyasına önemli cinsler; *Proteus, Providencia* ve *Morganella*'dır. Bunlar gram negatif, çubuk şeklinde, 0,4-0,8 mikron genişliğinde ve 1-3 mikron uzunluğundadır. Oksijenli veya oksijensiz hayatta kalabilirler, peritrik flagella yardımıyla

hareket edebilirler ve spor üretmezler veya kapsülleri yoktur. İzolatların çoğu fimbria sergiler. Proteus cinsinin dört türü bulunmaktadır bunlar, *P. mirabilis, P. vulgaris, P. myxofaciens* ve *P. penneri*'dir (Murray *et al.* 2003).

2.2 *Proteus mirabilis*'in Karakterizasyonu

P. mirabilis çubuk şeklinde Gram negatif bir bakteridir. Flagella ve fimbria adı verilen yapıları bulunmaktadır. Üreaz yapmak ve uzun kümelenen hücrelere dönüşebilmek için yeteneklidir. Agar plakalarında toplandığında hedef tahtası veya dairesel bir şekilde hareket eder (Girlich *et al.* 2020).

İnsan ürotelyal hücrelerine nüfuz etme yeteneği ve *P. mirabilis* virülans faktörlerinin üretimi, örneğin: üreaz ve hemolizin, sürü varyasyonuyla senkronize şekilde ilerler (Liaw *et al.* 2004).

P. mirabilis, idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) önemli nedenlerinden biridir (Armbruster and Mobley 2012). Biyofilm oluşturma, enzimler ve sitotoksinler yapma, hareket etme ve demir alma gibi İYE patofizyolojisine katılan birkaç virülans faktörüne sahiptir (Algburi *et al.* 2020).

2.3 İdrar Yolu Enfeksiyonları

Hem hastanelerde hem de toplumlarda en yaygın mikrobiyal hastalık idrar yolu enfeksiyonudur (İYE) (Tumturk *et al.* 2019). Böbrekler, üreterler, mesane ve üretra, bu enfeksiyondan etkilenebilecek üriner sistem organlarından sadece birkaçıdır. İYE'ler her yıl neredeyse 150 milyon kişiyi etkilemektedir. Kadınların %40'ı ve erkeklerin %12'si yaşamları boyunca en az bir semptomatik İYE epizodu yaşamaktadır. Tekrarlayan enfeksiyon nüksü, sepsis ile piyelonefrit, yenidoğan böbrek hasarı ve erken doğum gibi önemli sorunlara neden olabilir (Micali *et al.* 2014, Kranz *et al.* 2018, Zubair *et al.* 2019, Durgadevi *et al.* 2019).

İYE'ler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanan ve bilinçsiz antibiyotik kullanan solunum yolu enfeksiyonu olan kişilerde tespit edilmiştir (Bischoff *et al.* 2018). Bunlar, insanların hastanelerde kaptığı neredeyse bakteriyel enfeksiyonların %40-50'sini oluşturur. Daha fazla hastalığa ve hastanede daha uzun süre kalmanın yanı sıra büyük bir mali yüke neden olurlar (Karam *et al.* 2019).

İYE klinik olarak iki tipe ayrılır: basit ve karmaşık. Komplike olmayan İYE genellikle idrar yollarında herhangi bir yapısal veya nörolojik sorunu olmayan hastaların diğer bölgelerini etkiler (Kranz *et al.* 2018). İdrar yolu veya bağışıklık sistemine yönelik riskler, karmaşık bir İYE olarak bilinen bir enfeksiyonla ilişkilidir. Bu tehlikeler, örneğin, idrar tıkanıklığı, nörolojik bozuklukların neden olduğu idrar tutulması, bağışıklığın baskılanması, böbrek nakli hamileliği ve taşlar, kalıcı sondalar ve tıkanıklıklar gibi yabancı maddelerin varlığını içerir (Lichtenberger and Hooton 2018). İYE'lere neden olan bakteriler, duyarlılıkları ve direnç oluşturma yetenekleri gibi bir yerden diğerine değişir (Ramkumar and Logashanmugam 2018).

İYE'lere vücuda zararlı bakteriler neden olur. Gram-negatif bakteriler, İYE'lerin önde gelen nedenidir. *E. coli* en yaygın nedensel patojendi, ardından *K. pneumonia* ve *P. mirabilis* geldi (Flores-Mireles *et al.* 2015). İYE ile bağlantılı diğer Gram negatif çubuklar, Serratia ve Pseudomonas aeruginosa idi. En yaygın üropatojenler, sosyal olmayan enfeksiyonların %40'ından ve toplum kökenli hastalıkların %80'inden sorumlu olan Candida türleriydi. Yüksek kür oranlarına ve düşük direnç seviyelerine sahip olmak istiyorsanız, bunun farkında olmalısınız (Ekwealor *et al.* 2016).

Enterococcus faecalis, S. aureus ve *S. saprophyticus* gibi farklı Grampozitif bakteriler, İYE'lerle bağlantılı en yaygın zararlı organizmalar gibi görünmektedir (Koeijers *et al.* 2010, Gupta *et al.* 2011).

İYE, hem erkeklerde hem de kadınlarda en yaygın enfeksiyondur, ancak kadınların buna yakalanma olasılığı daha yüksektir. Antibiyotikler, enfeksiyonları teşhis etmek ve tedavi etmek için rutin olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bazı bakteriler, antibakteriyel ilaçlar içeren bir ortamda gelişme kapasitesi kazanmıştır. "Antibiyotik direnci" terimi

bunu açıklar. Cinsel aktivite, vajinal enfeksiyonlar, prostat sıvısının antibakteriyel nitelikleri, diyabet, kötü hijyen, obezite ve kalıtsal yatkınlık, İYE'lerin potansiyel nedenleridir (Mahdi *et al.* 2020).

2.4 Yara Enfeksiyonu ve Proteus Spp.

Yara, vücudun esnek dokularının devamlılığında bir kırılmadır (Torpy *et al.* 2005). Bir yaranın nasıl enfekte olacağı, kaç farklı şeyin birlikte çalıştığına bağlıdır. Konakçının derisinin savunma özellikleri, katmanın koruyucu aktiviteleri tehlikeye girdiğinde etkilenir. Sonuç olarak, konak reaksiyonunu başlatmak için çeşitli hücre türleri yaraya girer (Collier 2003). Yara enfeksiyonu, bir veya çeşitli mikrop türlerinin vücudun steril dokularına etkili bir şekilde yayılması ve çoğalmasıydı. Bazen irin oluşumuna yol açar (Calvin 1998). *P. mirabilis*'in antibiyotiklere karşı giderek daha dirençli hale gelmesi, yara enfeksiyonları söz konusu olduğunda büyük bir sorundur (Okesola and Kehinde 2008).

Bakteriler, mantarlar ve parazitler gibi mikroorganizmaların hepsi yaralara girebilir ve onları enfekte edebilir (Bowler *et al.* 2001). Hemolitik streptokoklar en bol bulunan gram pozitif bakteriler *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes*'dir. Pseudomonas aeruginosa, oksijen kullanan gram-negatif çubukların adıdır. Proteus türlerini, Klebsiella türlerini, *Escherichia coli* türlerini ve Enterobacter türlerini içerir. Küfler (Aspergillus türleri) ve Candida türleri mantarların iki türüdür.

2.5 *Proteus mirabilis*'in Virülans Faktörü ve Patojenleri

Proteus türlerinde bulunan çok sayıda virülans faktörü, adezyon, proliferasyon, kolonizasyon ve enfekte dokulara invazyona yardımcı olarak patogenezi ilerletir. *P. mirabilis,* tamamlayıcı sistem, hemolizin, metalloproteaz, amino asit deaminaz, üreaz, proteazları parçalayan antikorlar, doku matris proteinleri, fimbria, flagella, kapsül, fimbria, lipopolisakkaritler (LPS), biyofilm gelişimi, dış zar proteinleri, lesitinaz; demir toplama sistemleri, İnsan ürotelyal hücrelerine girmek için, veba toksini gibi virülans

faktörlerinin düzenlenmesini koordine etmelidir (Liaw *et al.* 2001). *Proteus* spp.'nin antibakteriyel maddeye karşı dirençli olduğu hakkında çok fazla bilgi bulunmaktadır (Bush 2010).

P. mirabilis, klinik örneklerden izole edilen en yaygın tür olarak karşımıza çıkmaktadır. En yaygın olarak idrar yolu enfeksiyonu olan hastalardan izole edilmiştir. Bunu sırasıyla akciğer enfeksiyonları, göz, kulak, burun ve cilt gibi başka rahatsızlıklar ve yara enfeksiyonları takip etmektedir (Schaffer and Pearson 2015). Kalra *et al.* (2011), *Proteus* spp. endokardite ve Okimoto *et al.* (2010), bu patojenin pnömoni hastalığına neden olduğunu belirtmiştir. Ayrıca Bloch *et al.* (2011), *P. vulgaris* bakteriyemisi ile beyin apselerinin meydana geldiğini ortaya koymuştur. Kirli bir üretral orifis ile başlayan ve kateter adezyonu, sistit ve piyelonefrit ile ilerleyen bu enfeksiyonların çok aşamalı doğası nedeniyle, kateter tıkanıklığı, idrar yolu enfeksiyonu, piyelonefrit ve böbrek taşları retrograd bir enfeksiyonun olası komplikasyonlarıdır. *P. mirabilis*'in benzersiz özellikleri ve virülans faktörleri bulunmaktadır. Bu sebeple İYE'lerin nedenlerini ve bakteriyel virülans faktörünün gelişimini incelemek, araştırmacıların *P. mirabilis*'in mekanizmasını belirlemesine olanak sağlamıştır (Yuan *et al.* 2021).

Diyabetik ayak ülserlerine genellikle *P. mirabilis*, *B. fragilis*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* neden olur. *P. mirabilis*, genellikle halk arasında görülen *Proteus* enfeksiyonlarının neredeyse %90'ını oluşturmaktadır. *P. mirabilis*, bir patojen olarak ilerledikçe çeşitli virülans faktörleri geliştirerek başarılı bir şekilde enfeksiyon oluşturmasına olanak tanır (Habibi *et al.* 2015).

Yapılan çalışmalarda üç varsayımsal zehirin patojeniteye olası katkısı incelenmiştir. Bunlar; ZapA (bir metaloproteaz), termolizin ve PTA (*Proteus* toksik aglütinin) olarak sıralanmaktadır. Akut piyelonefrit, bir enfeksiyonu böbreklere aktarabilen hemolizin tarafından tetiklenebilir. Ototransporter pta, bakteriyel yüzeyler üzerinde çalışan serin proteazdır (Sader *et al.* 2014).

İYE ve mesane kolonizasyonuna PTA proteini yardımcı olur. Araştırmacılar, İYE'leri hem in vitro hem de in vivo olarak test ederken hpmA ve PTA'nın birbirlerinin etkilerini

artırdığını göstermiştir. Bu durum özellikle Sistit ve interstisyel nefrit durumunda görülmektedir (Alamuri and Mobley 2008). ZapA Metaloprotealar, IgA, IgG, hBD1 ve LL-37 antimikrobiyal peptitleri, tamamlayıcı proteinler C1q ve C3'ü, fibronectin; aktin, kollajen'laminin, kazein ve jelatini parçalayabilir. Hemolizin ve proteaz zap, kümelenmiş hücrelerinin konağın ürotelyumuna karşı toksisitesini artırabilir.

Fimbriaların, piyelonefriti başlatan bir süreç olan renal hücrelere bağlanarak hem sistit hem de piyelonefritte önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Scavone *et al.* 2012). Yapılan çalışmalar, idrar yolundaki mannoza dirençli *Proteus* benzeri fimbria insidansının bakterilerin patojenitesine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Farelerde *P. mirabilis*'in keşfedildiği mesane, idrar ve böbreklerde, MR/P fimbriasyonu tespit edilmiştir (Zisman 2017).

2.6 Proteus Türlerinde Antimikrobiyallere Direnç

Antimikrobiyal direncin (AMR) dünya çapındaki yükselişi, temel bir halk sağlığı sorunudur (Islam *et al.* 2019, Mattar *et al.* 2020). Yılda yaklaşık 150 milyon İYE vakası meydana gelmektedir ve bu vakaların çoğu kadınlarda görülmektedir (Flores-Mireles *et al.* 2015, Zalewska-Piątek *et al.* 2019). Yapılan bir çalışmada, özellikle gram negatif bakteriler yaygın olarak kullanılan ampirik antimikrobiyal tedavilere karşı artan direnç göstermiştir (Ny *et al.* 2019, Bader *et al.* 2017).

Halka açık ortamlarda veya huzurevi ortamlarında uzun süreli mesane kontrolünün, milyonlarca üretral kateterin tahmini yıllık kullanımının büyük bir bölümünü oluşturduğu düşünülmektedir (Jacobsen *et al.* 2008). Ürolitiyazisin neden olabileceği kateterle ilişkili İYE'lerde, *P. mirabilis* enfeksiyonların yaygın bir kaynağı olduğu bulunmuştur. Bunun sonucunda ürenin üreaz tarafından parçalanmasının neden olduğu idrar asitliğinin artması sebebiyle böbrek ve mesane taşları gelişmektedir. Aynı veya benzer genotiplere sahip izolat grupları belirlenebilirse, bu enfeksiyonların hastane ortamlarında hayatta kalması ve olası yayılımı daha iyi anlaşılabilir. *P. mirabilis* enfeksiyonlarıyla mücadele etmek ve bunlardan kaçınmak için sağlık çalışanları, kişisel temizliğe öncelik vermelidir. *P.*

mirabilis'in İYE'lere neden olduğu mekanizmayı belirlemek için epidemiyolojik çalışmalara önem verilmelidir (Kanayama *et al.* 2015).

Florokinolonlar gibi antibiyotikler, daha önce idrar yolu enfeksiyonlarını (İYE) tedavi etmek için kullanılıyordu (Zanichelli *et al.* 2019). Bu ilaçların yaygın şekilde kötüye kullanılması nedeniyle, *P. mirabilis* oldukça dirençli hale gelmiştir (Endimiani *et al.* 2005). Ayrıca, klinik ortamlarda, aminoglikozitlere dirençli *P. mirabilis* suşları keşfedilmiştir. Gram-negatif bakteriler, antibiyotiklere (ESBL'ler) karşı bir savunma stratejisi olarak sıklıkla genişletilmiş spektrumlu laktamazları kullanır. Bir araştırmaya göre kinolon, aminoglikozit ve trimetoprim-sülfametoksazol direnci ile bağlantılı oldukları belirlenmiştir (Pitout *et al.* 2005).

2.7 Nanopartiküller

Nanoteknoloji, 1959'daki kuruluşundan bu yana büyüyen bir çalışma alanı olmuştur ve özgün bir araştırma yöntemini temsil etmektedir. Nanoteknolojinin kapsamı, Norio Taniguchi'nin ilk olarak 1974'te tanımlamasından bu yana bilim camiasında büyük ilgi görmüştür. Taramalı tünelleme mikroskopisini icat eden iki IBM araştırmacısı daha sonra bulgularını 1981'de deneysel olarak doğrulamıştır (Khan *et al.* 2019).

Tekstil sektörü, tıp alanı, elektronik mevcut nanoteknolojilerin sağladığı benzersiz özelliklere sahip düşük boyutlu malzemelerin kullanımından yararlanabilecek endüstrilerden sadece birkaçıdır. Sağladığı benzersiz faydalar nedeniyle nanoteknoloji, malzeme biliminin en ileri alanı olarak kabul edilebilir. Nanomalzemeler, küçük boyutları ve iletkenlik veya optik aktivite gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle dikkat çekmiştir (Jeevanandam *et al.* 2018).

Bir bilim alanı olan nanoteknoloji, boyut olarak çok küçük (1-100 nm) olan ve daha büyük muadillerine kıyasla yüksek yüzey alanına sahip nanopartiküller yaratmaya odaklanır. "Nano", "cüce" veya "son derece küçük" anlamına gelen Yunanca "nano" kelimesinden gelir (Rai *et al.* 2009). Gümüş, platin, titanyum, altın, bakır ve diğerleri gibi diğer birçok

metal, nanopartiküller oluşturmak için kullanılabilir. Nanoparçacıklar benzersiz kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklere sahiptir (Snigh *et al.* 2016). Biyolojik benzerlikleri ve uzun süreli kararlılıkları nedeniyle, biyolojik nanoparçacıklar antimikrobiyal uygulamalarda kullanılmaktadır (Franci *et al.* 2015).

Bakteri, mantar ve bitki prokaryotlarının yanı sıra ökaryotlar, farklı metal nanopartiküllerin biyolojik sentezinde kullanılır (Parikh *et al.* 2008). Bununla birlikte, incelenen çeşitli organizmalar arasında, prokaryotiklerin seçimi çoğunlukla, prokaryotların ökaryotik türlere göre kullanım kolaylığı, sonraki işlemlerde kolaylık ve genetik modifikasyonda basitlik dahil olmak üzere açık yararları olduğu gerçeğinden kaynaklanmaktadır (Pal *et al.* 2007, Ramanathan *et al.* 2011).

Kimyasal yöntemler, çevre için zehirli olan hem zayıf hem de güçlü indirgeyici maddeler ve koruyucu maddeler gerektirir ve üretim hızı düşüktür. Biyolojik teknikler, çevre için zararsız ve faydalı olduğu için diğerlerine göre daha fazla tercih edilir. Bu süreç aynı zamanda "yeşil sentez" olarak da adlandırılır (Mohanpuria *et al.* 2008).

Metalik nanoparçacıklar son zamanlarda çeşitli bilimsel disiplinlerde son derece arzu edilen ve hızla büyüyen malzemeler haline gelmiştir (Al-Awady *et al.* 2019, Al-Kinani *et al.* 2021). Nanomalzemeler, özellikle NP'ler üzerindeki gelişme, olağanüstü katalitik, optik ve elektriksel yetenekler sağlayan küçük boyutları ve alışılmadık derecede yüksek yüzey alanı aktivitesi gibi arzu edilen nitelikleri nedeniyle son derece popülerdir (Albukhaty *et al.* 2022, Al-Musawi *et al.* 2021). Sonuç olarak, kapsamlı araştırma, yenilikçi teknikle mikro ve nanoteknoloji uygulamalarının tümü metalik NP'leri içermektedir (Albukhaty *et al.* 2020, Al-Musawi *et al.* 2020, Al-Kinani *et al.* 2020, Al-Kaabi *et al.* 2021, Al-Kinani *et al.* 2021). Farklı fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı, biyolojik uygulamalara sahip metal oksit nanoparçacıkları (NP'ler); demir oksit NP'leri (Fe_3O_4), manganez oksit NP'leri (MgO), titanyum dioksit NP'leri (TiO_2) ve çinko oksit NP'leri (ZnO) içerir. Son birkaç yılda, bu NP'ler çokça kullanılmıştır. Al_2O_3-NP'ler, bakterileri öldürmek için kullanılan metalik nanoparçacıklardır. Bu NP'ler çok tehlikeli olmadığı için tıpta kullanılmaktadır (Humphries *et al.* 2018). Küçük miktarlarda bile, Al_2O_3-NP'ler çok çeşitli tehlikeli bakterilere karşı mükemmel antimikrobiyal aktiviteye

sahiptir. Birkaç g/mL kadar düşük konsantrasyonlarda bile bakteri üremesini tamamen durdurabilirler. Bu NP'lerin, bakterilerin antibiyotiklere dirençli hale gelmesini durdurmada ve dirençli suşlar yapmada yararlı olduğu belirlenmiştir (Halbus *et al.* 2017).

Titanyum dioksit NP'ler (TiO_2 NP'ler), kararlı bir fiziksel ve kimyasal yapının yanı sıra kararlı optik, elektriksel ve biyouyumlu özelliklere sahip nanoparçacıkların örneğidir. FDA'ya göre güvenlidirler ve toksik değildirler. Mikropları öldürdüğü ve kötü kokuları giderdiği için kozmetik, diş macunu ve temizlik ürünleri gibi birçok üründe kullanılmaktadır (Wist *et al.* 2002). Bu nanoparçacıklar, çeşitli antibakteriyel kimyasallar içerdiklerinden, bakterilerin neden olduğu hastalıkları tedavi etmek için kullanılabilirler (Al Matar *et al.* 2018). Titanyum, güvenli olduğu ve UV radyasyonunu diğer nanoparçacıklardan daha iyi emdiği için, zarar görmüş cilde sahip kişiler için "güneş engelleyici" gibi çok sayıda cilt "enfeksiyonunu tedavi etmek için sıklıkla kullanılmıştır (Sosa *et al.* 2006). Ayrıca, hem havayı hem de suyu kirleticilerden temizlemek ve yarı iletkenler için fotokatalizör olarak da kullanılmaktadır (Pavasupree *et al.* 2008).

2.7.1 Nanopartikül türleri

Nanoteknoloji, büyük ölçüde nanopartiküllere bağlıdır. Boyutları 100 nanometreden küçük olan 0-D malzemelerden yapılmıştır. Nanoparçacıklar, iyi tanımlanmış ve uzmanlaşmış özelliklerinden dolayı tıp, kimya mühendisliği, otomotiv mühendisliği, elektronik ve gıda sektörü olmak üzere birçok mühendislik sektöründe kullnılmaktadır. Gümüş nanoparçacıkların fiziksel, kimyasal ve optik özellikleri bu faktörler aracılığıyla değiştirilebilir. Nanoparçacık bazlı malzemeler, bir çözeltide kaç tane nanoparçacık bulunduğuna, yoğunluğuna ve rengine bağlı olarak değişmektedir.

Nanopartikülleri oluşturan kimyasalların üç seviyesi vardır. Dış tabakayı, metal iyonları veya polimerler gibi diğer moleküllerle etkileşime girecek şekilde inşa etmek mümkündür. Çekirdekten kimyasal olarak ayrı olan ara katman, parçacığın içi ile dışı arasındaki bağlantıyı korur. Bir nanopartikülün çekirdeği onu oluşturan maddeleri içerir (Shin *et al.* 2016). Bazı nanopartikülleri kaplamak için kitosan veya dekstran gibi polimerler kullanılır. Bu, ortaya çıkan polimerik hidrojelin antimikrobiyal olmasını sağlar

(George *et al.* 2020). Biyo-maddelerin veya ilaçların kapsüllenmesi, tıbbi araştırmalarda (Ahmadian *et al.* 2019) travma sonrası yaralı bir organın iyileşmesini hızlandırmayı amaçlayan yeni bir stratejidir.

Nanopartiküller bir dizi yöntemle yapılabilir. Aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya hareket bu yöntemin iki farklı yoludur. İki yaklaşım, başlangıç noktası olarak kullanılan malzemelere bağlı olarak farklı teknolojiler kullanır. "Yukarıdan aşağıya" yönteminde, büyük malzeme parçaları küçük parçalara bölünür. "Aşağıdan yukarıya" yöntemi ise, nanometrik boyutlara sahip kümeler ve parçacıklar halinde büyüyecek çekirdekleri "tohumlayabilen" kimyasal reaktiflerle nanoparçacıklar yapmayı içerir (Kargozar and Mozafari 2018). Nanopartiküller, nereden geldiklerine ve neyden yapıldıklarına bağlı olarak gruplara ayrılabilir. Organik parçacıklar (dendrimerler ve lipozomlar gibi) inorganik parçacıklar (metal) veya karbon bazlı parçacıklar ve malzemelerle (grafen, nanotüpler) etkileşime girdiğinde meydana gelirler.

2.7.2 Gümüş nanoparçacıklar

Nanoteknoloji, bilimin değişen pek çok alanında kullanıldığı için hızla değişen bir alandır (Alkaim *et al.* 2015). Metal nanoparçacıklar, birçok ilaca dirençli bakterilerin öldürülmesinin bir yoludur (Huh and Kwon 2011). Bu nanopartiküller metal iyonlarını serbest bırakır ve aynı anda hem oksidatif hem de oksidatif olmayan strese neden olur (Zaidi *et al.* 2017). Bu maddeler zarlara, hücrelere ve diğer dokulara zarar verebilir (Ahn *et al.* 2018). Bu inorganik ajanlardan biri, gümüş metalden yapılmış ve toksik olmayan AgNP'lerdir. AgNP'ler bakterileri öldürür, virüslerle savaşır ve mantarları az miktarda olduklarında öldürür (Marambio-Jones and Hoek 2010).

AgNP'lerin bakteriyel üretimi, mikrobiyoloji açısından ilginçtir çünkü bazı gümüş dirençli bakteri türlerinin iyi bilinen gümüş direnç mekanizmaları vardır (Thakkar *et al.* 2010). Ayrıca, gümüş nanopartiküllerin yerel ışığı 10-100 kat çoğaltabileceği gösterilmiştir. Bu, 106-108 arasında değişen iyileştirme faktörleriyle, yüzeyi geliştirilmiş Raman saçılımıdır (SERS) (Pal *et al.* 2007). *E. coli* ve diğer Gram negatif bakteriler gümüş nanopartiküller üretebilir. Onlara özgü gümüş nanopartiküller, 420 nm dalga

boyuna sahip ışığı soğurur (Thakkar *et al.* 2010). Nanopartiküller, hem hücre dışı hem de hücre içi biyolojik teknikler kullanılarak oluşturulur (Shaligram *et al.* 2009). Ayrıca gümüş nanoparçacıklar, elektronikten tıbba ve gıda teknolojisine kadar pek çok farklı alanda kullanılabilmeleri nedeniyle popüler bir nanomalzeme olmaya devam etmektedir (Mukherjee *et al.* 2008).

Nanoteknolojinin en önemli ve hala büyüyen kullanımlarından biri de nanogümüş üretimi ve kullanımıdır. Hem tıbbi hem de çevresel teknolojideki birincil antibakteriyel ajan nanogümüştür. Nanogümüş kemik çimentosu, yara pansumanları, diş reçine amalgamları, tıbbi cihaz kaplamaları, antimikrobiyal su filtresi kaplamaları, antimikrobiyal tekstil maddeleri, yastıklar, solunum cihazları, çoraplar, ıslak mendiller, deterjanlar, sabunlar, şampuanlar, diş macunları, çamaşır makineleri yapımında kullanılır. Bu maddeler enfeksiyonlardan ve biyofilm oluşumundan kaçınmak için kullanılır (Franci *et al.* 2015). Nanogümüşün bakterileri yok edebileceği ve çok sayıda Gram-pozitif, Gram-negatif ve mantar hastalığının büyümesini önleyebileceği tespit edilmiştir (Saeb *et al.* 2014).

Çok sayıda çalışma, nano gümüş yara pansumanlarının kullanılmasının yaralardaki bakteri üremesini engelleyebileceğini veya sınırlayabileceğini ve bu da iyileşme sürecini hızlandırabileceğini göstermiştir. Bunlara ek olarak, diyabetik ayak yaraları gibi yaralarının iyileşmeme riski taşıyan kişiler, antibakteriyel nanogümüş içeren yara pansuman jellerine ihtiyaç duyabilirler (Lullove and Brent Bernstein 2015, Velázquez-Velázquez *et al.* 2015).

Nano gümüş tıbbi ve çevresel ürünlerde daha çok kullanıldığından, bakterilerin antimikrobiyal etkisini aşmanın yollarını bulacağından endişe duyulmaktadır. *E. coli, Enterobacter cloacae, K. pneumonia* ve *S. typhimurium* gibi çeşitli bakteri türlerinin metal gümüşe dirençli olduğu gösterilmiştir (Hendry and Stewart 1979). Ancak Nano gümüşlerin bakterileri nasıl etkilediği hakkında pek bir şey bilinmemektedir. Gunawan *et al.* (2013), çevrede hedef alınmayan *Bacillus* türlerinin antimikrobiyal Nanogümüşlere uyum sağlayabildiğini bulmuşlardır.

Kumar *et al.* (2018) gümüşün faydaları olduğu için tıpta uzun süredir kullanılan yumuşak, parlak bir metal olduğunu belirtmektedir. Gümüş, eski Mısır ve Roma'da kullanıldı çünkü insanlar bunun bir şeyleri güvende tutmanın iyi bir yolu olduğunu düşündüler (Mathur *et al.* 2018). Hipokratlar, gümüşü yaraları, ülserleri ve 'enfeksiyonları tedavi etmek için kullanmıştır. Gümüş, yaralardaki enfeksiyonları yaranın üzerine koyarak veya yiyerek tedavi etmek için kullanılmıştır. Gümüş bakterileri öldürdüğü için, Hint tıbbında kremler ve diğer ilaçlar gümüşten yapılırdı. Ayrıca gümüş, yaraları iyileştirmek ve insanların hastalanmasını önlemek için kullanılıyordu. 1900'lerin sonunda ABD, enfeksiyonların kolloidal nanogümüş ile tedavi edilebileceğini belirtmiştir. Bu durum, günümüzde hala kullanılan gümüşten yapılmış malzemelere daha yakından incelenmesine neden olmuştur (Mathur *et al.* 2018). Bilim ve teknoloji geliştikçe, daha iyi özelliklere sahip gümüş nanomalzemeleri bulmak mümkün hale gelmiştir. Gümüş nanopartiküller, boyutlarına göre çok fazla yüzey alanına sahiptir, bu da onları vücutta daha aktif hale getirir. Bakterilerin daha büyük bir yüzeye yayılmak için daha fazla alanı vardır, bu nedenle antibakteriyel etki daha güçlüdür (Deshmukh *et al.* 2019). Ayrıca, gümüş parçacıkları kütle boyutu yerine nanometre ölçeğinde olduğunda, daha iyi optik ve fiziksel özelliklere sahip olurlar. Gümüş nanoparçacıklar, ısıyı diğer tüm metallerden daha iyi aktarabildikleri için elektronikte kullanılır (Marinescu *et al.* 2020). Ayrıca, sayısız özelliklerinden dolayı biyomedikal uygulamalarda da ilgi görmektedirler.

2.8 Kümelenme Hareketliliği

P. mirabilis ile ilgili en tehlikeli özellik hareket edebilme yeteneğidir (Kuan *et al.* 2014). Bu enfeksiyon üretra çevresindeki bölgede başlar, üretraya taşınır, ardından mesaneye ve idrar yolunun diğer bölümlerine yayılır (Hickling *et al.* 2017). Batirel *et al.* (2020) patojen hareket ettiğinde bu bölgelerle daha kolay etkileşime girebileceğini belirtmiştir. Proteus'un hareketine kümelenme adı verilmiştir ve bu bakteri kümelendiğinde virülansı artmaktadır (Kotian *et al.* 2020).

Oğul verme, yüzmekten farklıdır çünkü bir et suyu ortamında veya yumuşak bir agarda hareket etmek yerine flagella yardımıyla bir yüzey boyunca hareket eden birden fazla hücreyi içerir. *P. mirabilis*'in sürüsü için, kaynayan hücrelerinin şeklinin de değişmesi

gerekir. Sürü hücresi farklılaşmasının gerçekte nasıl kontrol edildiği bilinmemektedir (Armbruster and Mobley 2012). Oğul hücreleri hareket ettiğinde, bunu flagella ile bağlanan hücre grupları olarak yaparlar. İlk göçten sonra, swarmer hücreleri hareket etmeyi bırakır ve yüzücü hücreler olmak için bir araya gelirler. Kısa bir aradan sonra yüzücü hücreler tekrar uzamaya başlar ve kaynaşma tekrar başlar. *P. mirabilis* sert agar yüzeylerde süründüğünde, ileri geri hareket ederek ve sonra birbirine yapışarak karakteristik boğa gözü modelini oluşturur (Rauprich *et al.* 1996, Gibbs and Greenberg 2011). Örneğin, çoğu türde sürü hücrelerinin yüzeyle temas kurması ve kamçılarını hareket ettirmeyi bırakması gerekir (Belas and Suvanasuthi 2005). Son olarak, yüzey teması, hücre duvarı ve lipopolisakkarit bileşimindeki modifikasyonlar ve artan kamçılı gen ifadesinin tümü, artan kamçılı ana düzenleyici FlhD2C2 aktivitesine katkıda bulunur (Morgenstein and Rather 2012). Bunlara ek olarak, oğul verme başladığında, gerçekleştiğinde ve genel olarak göründüğünde putresin ve bazı yağ asitlerinin değiştiği bulunmuştur.

Bir bakteri kamçısı genellikle üç kısımdan oluşur: taban, kanca, sarmal lif. Dikkatlice kontrol edilen bir dönüş sayesinde bu parçalar birbirine iyi uyum sağlar (Macnab 1996). Flagellum için yapısal bir protein yapan FliL genindeki değişikliklere bir mutasyon, bir bozukluk veya başka bir şey neden olabilir. Bu durum, yanlış türde oğul hücreleri olan "sözde oğul hücreleri" yapabilir. Bu da FliL proteininin hücreler istemese bile yüzey algılamada kullanıldığını göstermektedir (Bloch *et al.* 2011).

Katı bir besiyerinde büyüyen *P. mirabilis*, sadece oğul hücreleri yapar. Bu, sürü hücrelerinin başka bir şey yapmadan önce yüzeyleri algılayabilmesi gerektiği anlamına gelir. Bu bakterinin vejetatif hücrelerindeki kamçı, peritrik olarak kamçılı bakteriler olarak adlandırılmasını sağlar. *Vibrio parahaemolyticus'*un tarif edildiği gibi, flagellum dönmesinin kesilmesi, sürü hücresi farklılaşması için fiziksel bir işaret görevi görür (Alavi and Belas 2001). Flagella sıvılarda serbestçe hareket eder. Bununla birlikte, katı bir ortam üzerinde, sürü hücrelerini başka bir şeye dönüştüren, flagella'nın dönmeyi durdurması sonucudur.

Oğul oluşumuna, karmaşık gen düzenlemesi ve sinyal iletimi neden olur (Armbruster and Mobley 2012). Çoğu insan, iki bileşenli sistemlerin sinyalleri (TCS'ler) alıp gönderebileceğini düşünür. *P. mirabilis'*in virülans faktörleri gösterme yeteneğinin, sürü oluşturma yeteneğiyle bağlantılı olduğunu bilmek önemlidir (Armbruster and Mobley 2012). Genel olarak, flagella'nın *P. mirabilis*'in kateter bağlantılı İYE'ler sırasında kolonize olmasına ve yayılmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir. FlhDC, flagellum bağlantılı genlerin hangi yollarla açılıp kapatıldığını kontrol eden bir ana düzenleyicidir (Jacobsen *et al.* 2008). FlhDC ekspresyonu, oğul hücre farklılaşması sürecinde çok fazla artmaktadır (Clemmer and Rather 2007).

Şekilsel değişikliklere ek olarak, sürü hücresinin uzaması, çok çeşitli fizyolojik farklılıklar içermektedir. Düzinelerce genin ifade edilme biçiminde değişiklikler vardır. Örneğin, flagella yapan genler yüzeylerde ortaya çıkar (Pearson *et al.* 2010). Dış zardaki değişiklikleri içeren hücre zarındaki değişiklikler, aynı zamanda, hücrelerin sürü halindeki hücrelere dönüşmesiyle sonuçlanır. Örneğin, dış zardaki LPS'nin yapısı değişir, akışkanlık artar ve fosfolipid çift tabakalı alanlar oluşur (Gué *et al.* 2001).

Bunlara ek olarak, *P. mirabilis, E. coli* ve *Serratia marcescens* dahil olmak üzere bakterilerin oğul verme kontrolünün, hücre zarfı şeklinden ve stres algılamasından etkilendiği görülmektedir (Jorgenson *et al.* 2016, Wang *et al.* 2008). Son 20 yılda, flagella hareketinde oynadığı farklı roller nedeniyle FliL adı verilen yaygın bir flagella motor parçası büyük ilgi görmüştür (Sobe *et al.* 2022). Çoğunlukla periplazmada bulunan FliL, MotA ve MotB'nin etkileşime girdiği düşünülen bir zar proteinidir. Bununla birlikte, FliL mutantlarının fenotipleri, bakteri alanı boyunca önemli ölçüde değişir ve FliL'nin kesin işlevi hala bilinmemektedir. FliL, stator düzeneği, rotorla ilişki, tork üretimi, yüzey algılama ve proton kanalının modülasyonu ve flagella filamanın (veya çubuğun) stabilitesi ve oryantasyonu dahil olmak üzere birçok bakteri türünde stator aktivitesinin sayısız yönüyle ilişkilendirilmiştir (Mengucci *et al.* 2020, Pecina *et al.* 2021, Tachiyama *et al.* 2022).

Bir zamanlar patojenik ve fırsatçı bakterilerin yüzeyinin, mikropların orijinal konumlarından yayılmasını kolaylaştıran flagella ile kaplı olduğu düşünülüyordu (Liaw

et al. 2003). Kümelenme uygunsuz veya zararlı bir davranıştır. Proteus transpozon mutantlarında, FlhD2C2, FlhA, Umo, Lrp, RsbA, RsmA, SpeB ve diğerleri dahil olmak üzere bir çekirdek protein setinin, oğul oluşturmayı ve virülans faktörlerinin ortaya çıkmasını düzenlemek için çok önemli olduğu bulunmuştur (Fraser and Hughes 1999). Bakteriyel iki kombinasyonlu sinyal sisteminin fosfor vericisi, yukarıda listelenen düzenleyici proteinlerden biridir ve RsbA'da bulunur (Liaw *et al.* 2003). *P. mirabilis*'te, sürü ayrışmasının ve hastalık oluşturma faktörlerinin üretiminin negatif düzenleyicisi olarak işlev görür (Liaw *et al.* 2005). Bununla birlikte, çok çeşitli bakterilerde bulunduğundan, protein RsmA evrensel bir düzenleyici protein olarak kabul edilir (Liaw *et al.* 2003).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, RsbA ve RsmA tarafından oğul oluşturmayı ve diğer virülans faktörlerini etkinleştirmek için kullanılan sinyal yollarının birbirleriyle nasıl etkileşime girdiği açıklanamamıştır. *P. mirabilis* sürü oluşturabilmek için çevresinden, komşu hücrelerden ve hücrenin içinden gelen birçok sinyali toplamalı ve birleştirmelidir. Bu semptomlar, büyük bir popülasyon, peptidler ve amino asitler, yüzey teması veya hücre içindeki katyonlar tarafından oluşturulabilir (Fraser and Hughes 1999).

P. mirabilis'te, umo lokuslarının, aşırı ifade edildiğinde, hasarlı bir flagella şaperona sahip bir flgN'nin kümelenmesini önleyebilen genler içerdiği keşfedilmiştir (Dufour *et al.* 1998). Yapılan araştırmalarda UmoA, UmoB, UmoC ve UmoD genleri keşfedilmiştir. Aşırı ifade edildiğinde, her biri flhDC'yi daha aktif hale getirebilir. Görünüşe göre UmoA ve UmoC, *P. mirabilis*'e özgü proteinlerdir. Bununla birlikte, UmoB ve UmoD proteinleri, sırasıyla *E. coli* ve *S. typhimurium*'un YrfF ve IgA proteinleri ile benzerlik göstermektedir (Cano *et al.* 2001).

IgA ortolog UmoB'deki bir mutasyon, *P. mirabilis*'teki bakterilerin oğul vermeyen bir fenotip sergilemesine neden olur. Bu muhtemelen flhDC ifadesinin kaybından kaynaklanır (Dufour *et al.* 1998). Diğer Umo gen ürünlerinin oğul vermede hangi işlevi olduğu henüz kesin değildir. Oğul oluşturma, UmoD geni değiştirildiğinde durur, oysaki UmoA ve UmoC genlerindeki değişikliklerin oğul üzerinde hiçbir etkisi yoktur (Dufour *et al.* 1998).

2.9 Tedavi

Bakteriyel enfeksiyonların sayısı dünya çapında sağlık için büyük bir tehdittir. Antimikrobiyal ajanlar, ucuz oldukları ve iyi çalıştıkları için bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Albukhaty *et al.* 2020).

İYE tedavisi genellikle idrardaki patojenlerin antibiyotik direncini bir kılavuz olarak kullanarak "ampirik" bir temelde başlatılır. Antimikrobiyal ilaçlar yapılmış ve kullanılmış olsa da enfeksiyonlardan kaynaklanan İYE'lerin sayısı son zamanlarda hızla artmaktadır. Bazı insanlar, artışın İYE'lerin antibiyotiklere karşı daha az duyarlı hale gelmesinden kaynaklandığını düşünmektedir. Antibiyotiklere dirençli bakteriler içeren üropatojenler, hızla kötüleşen önemli bir halk sağlığı sorunudur ve üriner patojenler tüm dünyada antibiyotiklere karşı giderek daha dirençli hale gelmektedir (Rao *et al.* 2022).

P. mirabilis normalde beta-laktam antibiyotikler, aminoglikozitler, florokinolonlar ve trimetoprim sülfametoksazol tarafından öldürülebilir. Ancak polimiksin, nitrofurantoin ve tetrasiklin bunlara doğal olarak dirençlidir (Chen *et al.* 2012). Antimikrobiyallere dirençli bakterilerin sayısı dünya çapında artmaktadır. Bu, ampirik tedavilerin daha az etkili hale geldiği anlamına gelir (Rodriguez *et al.* 2019). Ayrıca aminoglikozit, strptotrikin, florokinlon, laktamat, fenikol ve trimetoprim-sülfametoksazol gibi antibiyotikler çoklu ilaca dirençli suşlar üzerinde etkili olmamıştır (Chen *et al.* 2015).

Örneğin beta-laktam, aminoglikozit, kinolon ve karbapenem antibiyotik aileleri, *P. mirabilis*'e karşı daha az etkili hale gelmektedir. Bu genler, plazmidler, transpozonlar ve integronlar gibi mobil genetik elementler tarafından taşınabilir (Girlich *et al.* 2020). *P. mirabilis*, çoklu ilaca dirençli genişletilmiş spektrumlu beta laktamazlar, AmpC ve karbapenemazlar geliştirir (Bontron *et al.* 2019). Antimikrobiyal ilaçlar zamanla daha az etkili hale geldiğinden, *P. mirabilis* bakterilerinin antimikrobiyal direnç sorunlarına katkıda bulunmasını önleyecek yeni ilaçlar, kombinasyon terapileri veya yöntemler keşfetmek çok önemlidir.

Şu anda, tercih edilen antibiyotik olan nitrofurantoin, İYE'ler için birinci basamak tedavi olarak önerilen tek antibiyotiktir. Ancak nitrofurantoin verilen kişilerde sıklıkla mide sorunları vardır. Ayrıca nitrofurantoin, genellikle yaşlı insanlarda (tahmini glomerüler filtrasyon hızı 45 mL/dakika) ve böbrek fonksiyonu zayıf olan kişilere verilmemelidir. Bu nedenle trimetoprim, birçok İYE'yi tedavi etmek için hala en iyi seçimdir. *E. coli* ve Klebsiella spp., trimetoprim'e en sık dirençli bulunan üropatojenlerdir (Toner *et al.* 2016).

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmada kulllanılan materyal ve yöntemler aşağıda açıklanmıştır.

3.1 Materyal

Çalışmanın gerçekleşmesi aşamasında kullanılan makine-teçhizat, kimyasal maddeler, kültür ortamları, kitler ve primerler aşağıda ayrı başlıklar halinde belirtilmiştir.

3.1.1 Makine ve teçhizatlar

Çalışmada kullanılan makine ve teçhizatların listesi Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan makine ve teçhizatlar

No	Makine-Teçhizat	Şirket/Ülke
1	Otoklav	Gemmy/Tayvan
2	Benzen brülörü	Naugra/Hindistan
3	Santrifüj	Human/Almanya
4	Soğutmalı santrifüj	Sigma/Almanya
5	Elektrikli Davlumbaz odası	Labnet/Amerika
6	Manyetik Karıştırıcılı sıcak plaka	Lab tech/Kore
7	Kuluçka makinesi	Memmert/Almanya
8	Işık Mikroskobu	Olympus/Japan
9	Nano damla	Thermo Scientific
10	Fırın	Lab Tech/Korea
11	pH ölçer	Hanna/Romanya
12	Güç kaynağı	Biotech/Almanya
13	Gerçek Zamanlı PCR tüpü	
14	Buzdolabı	Concord/Lübnan
15	Hassas elektrik dengesi	Denver Instrument/Almanya
16	Spektrofotometre	EMC Lab/Almanya
17	Termocycler aparatı	ESCO/ Hindistan
18	UV transillüminatörü	Optima INC/Japonya
19	Vorteks	Heidolph/Almanya
20	Su banyosu	Grant/İngiltere

3.1.2 Kimyasal maddeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Numara	Kimyasal Malzeme	Şirket/Ülke
1	Agar-Agar	Himedia/Hindistan
2	Agaroze	Amerika Bio/ABD
3	AgNP	ABD
4	Baryum klorür ($BaCl_2$)	Chem Supply/Avustralya
5	Bromotimol	Bio Basic INC/Kanada
6	Elma şarabı yağı	Suriye/Suriye
7	Etanol (mutlak)	Fluka/Almanya
8	GeneRuler 100 bp DNA markörü	Bioneer/Kore
9	Gram Boyama	Syr Bio/Suriye
10	Nükleaz serbest su	Bioneer/Kore
11	Emniyet boyası	ABM
12	Sülfürik asit (H_2SO_4)	Fluka/Almanya
13	TBE tamponu	Bioneer/Kore
14	Dimetil sülfoksit (DMSO)	Hindistan

3.1.3 Kültür ortamı

Çalışmada kullanılan kültür ortamları Çizelge 3.3'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan kültür ortamları

Numara	Kültür Ortamı	Şirket/Ülke
1	Amies taşıma ortamı	AFCO/Ürdün
2	Kan agar	LAB/Birleşik Krallık
3	Beyin kalp infüzyon agarı	LAB/Birleşik Krallık
4	Beyin kalp infüzyon et suyu	LAB/Birleşik Krallık
5	MacConkey agar	LAB/Birleşik Krallık
6	Muller-Hinton agar	LAB/Birleşik Krallık

3.1.4 Kitler

Çalışmada kullanılan kitler Çizelge 3.4'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan kitler

Numara	Kitler	Şirket/Ülke
1	API 20E Sistemi	BioMerieux/Fransa
2	Bakteriyel DNA ekstraksiyon kiti	Geneaid/Birleşik Krallık
3	Ana karışım kiti	Bioneer/Kore
4	Syber green Master karışım kiti	Promega/ABD
5	GENEZol™ TriRNA saf kit	Birleşik Krallık

3.1.5 Primerler

Primer dizilerine bakmak için Online (In Slico) Programı kullanılmıştır. PCR amplifikasyon çalışmasında kullanılan primerler Çizelge 3.5'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.5 UmoDD ve RffGD genlerini çoğaltmak için kullanılan primerler

Gen	Primer Dizileri (5´-3´)	Ürün boyutu
UmoDD	F: ATGTGGTTTCAGCAACACCG R: TCGCCCGGTTTAAATGTCGT	304bp
RffGD	F: ACCACTGCCTGTTTATGGCA R: TCACCCAGTCCTAAACGCTC	429bp

*F: İleri, *R: Geri, A: Adenin, C: Sitozin, G: Guanin, T: Timin

3.2 Yöntem

Kullanılan yöntemler ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

3.2.1 Medya

Üreticinin talimatlarına bağlı olarak, bu çalışmada kullanılan ortamlar hazırlanmıştır (MacFaddin 2000, Illanchezian *et al.* 2010).

3.2.2 Sterilizasyon

Camlar ve kullanılacak olan pipet uçları, otoklavda 121°C'de ve 15 pound/inç basınçta 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

3.2.3 Solüsyonlar, reaktifler ve boyalar

Çalışmada kullanılan solüsyonlar, reaktifler ve boyalar aşağıda sırasıyla açıklanmıştır.

3.2.3.1 McFarland standartı

Özellikle, McFarland 0,5 standardı, 0,5 mL %1,17 (w/v) Baryum Klorür ($BaCl_2H_2O$) çözeltisi ile 99,5 mL %1 (v/v) saf sülfürik asit (H_2SO_4) çözeltisi karıştırılarak oluşturulur. 1,5 mg içeren tüp, bakteri süspansiyonuna benzer bir bulanıklık oluşturmak için spesifik optik yoğunluğa sahip baryum sülfat çözeltisi oluşturmak için oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda (20–25°C) bekletildi (Wise *et al.* 2002).

3.2.3.2 Etil alkol (%70)

Saf su ile 70 mL saf etanol (%99,9)'ün 100 mL bir şişeye doldurulması ile hazırlanmıştır (Benson 2001).

3.2.3.3 Tris borat EDTA tamponu (TBE-1 X)

10 mL stok TBE-10X, 90 mL DW ile birleştirilerek, 4°C'de saklanarak hazırlanmıştır (Sambrook *et al.* 1989).

3.2.4 Örnek toplama

Thi-Qar ili/Irak'taki AL-Hussein Eğitim Hastanesinin üroloji konsültasyon kliniğinde idrar yolu enfeksiyonu (60 hasta) ve yara enfeksiyonu (40 hasta) olan toplam 100 hastadan örnek alınmıştır.

3.2.5 İzolasyon

Toplanan örneklerden *Proteus* türlerinin izolasyonu, saflaştırılması ve tanımlanması için seçici ve ayırıcı besiyeri olarak kabul edilen MacConkey Agar kullanılmıştır. Tüm plakalar 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, izole edilmiş saf koloniler, koruma amacıyla ve izolatların tanımlanmasını doğrulayan ek biyokimyasal testler gerçekleştirmek için Beyin Kalp İnfüzyon agar ortamına aktarılmıştır. Daha sonra, izolatlar kanlı agara yayılarak 37°C'de 24 saat inkübatöre yerleştirilmiştir. *Proteus* spp.'nin hemolitik aktivitesinin yanı sıra izolatların şekli, boyutu, renginin yanı sıra oğul verme oranı belirlenerek ve örnekler incelenmiştir.

3.2.6 İzolatların tanımlanması

Hazırlanan ortamklara aktarılan örneklerde gelişen bakterilerin tanımlanması için aşağıdaki yçntemler kullanılmıştır.

3.2.6.1 Mikroskobik muayene

İzole edilen hücrelerin boyaya tepkisini, şekillerini ve düzenlerini belirlemek için Gram boyama kullanılmıştır.

3.2.6.2 Kan agar ve MacConkey agar 'da koloni morfolojisi

Kanlı agar plakalarında bakteri kolonileri geliştirilmiştir. Daha sonra şekil, boyut, renk ve kan hemolizi açısından örnekler incelendi. Bunlara ek olarak, süreç boyunca oğul verme olgusu gözlendi ve MacConkey agar plakalarında yetiştirilen suşların laktoz şekerini fermente etme yetenekleri değerlendirilmiştir.

3.2.7 Biyokimyasal testler

API 20E Sistemi: Bu teşhisi gerçekleştirmek için üreticinin standart çalışma prosedürü takip edilmiştir.

3.2.8 Antimikrobiyal duyarlılık testi

Bauer (1966)'e göre disk difüzyon yönteminin nasıl yapıldığı aşağıda belirtilmiştir.

- Koloniler, steril bir aşılama özesi kullanılarak bakteri izolatının bir gece beklemesinden sonra elde edilen kültüründen toplanmıştır. Bulanıklık, McFarland bulanıklık standardı ile karşılaştırılabilir hale geldiğinde koloniler, 5 mililitre steril normal salin içinde emülsifiye edilmiştir ve bulanıklık hemen hemen eşit olana kadar bu işlem tekrarlanmıştır.
- Bakteri süspansiyonu steril bir çubuğa uygulandıktan sonra fazla sıvı sıkılarak tüpün duvarına bastırılmıştır.
- Muller-Hinton agar plakasının tüm yüzeyi boyunca şeritler oluşturmak için bakteri süspansiyonundan sürüntü kullanılmıştır. Daha sonra petri kabı 45 derece döndürülerek işlem tekrarlanmıştır.
- Antimikrobiyal diskleri almak ve bunları aşılanmış petrinin yüzeyine yerleştirmek için steril bir forseps kullanılmıştır. Diskler hafif bir dokunuşla agarın üzerine eşit aralıklarla yerleştirilmiştir.
- İnkübasyondan sonra petri kaplarının, temiz bir alan olup olmadığı kontrol edildi. Petri kaplarında açık bir alan yoksa, organizma bu antimikrobiyal maddeye "dirençli" olarak adlandırılmıştır. Daha sonra, bölge çapı yorumlama standardı olan CLSI kullanılarak, inhibisyon bölgelerinin boyutu hesaplanmıştır (Wayne 2010).

3.2.9 Moleküler tanı

3.2.9.1 Genomik DNA'nın ekstraksiyonu

P. mirabilis izolatından elde edilen genomik DNA, PrestoTM Mini gDNA Bacteria Kit kullanılarak ekstre edilmiştir.

- **Numune hazırlama**

Beyin Kalp İnfüzyon Agar kültürlerinde bulunan (1x109'a kadar) bakteri izolatları, mikro santrifüj tüplerine yerleştirildi ve 16,000 rpm'de bir dakika döndürüldü. Daha sonra, süpernatan atıldı. 20 mL Proteinaz K ilave edildikten ve vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra numuneler en az 10 dakika 60°C'de tutuldu. Kuluçka süresi boyunca, her tüp her 3 dakikada bir ters çevrildi.

- **Hücre parçalanması**
- **DNA bağlanması**

Numune lizatı, 200 mikrolitre mutlak etanol ile infüze edildi ve birleştirmek için hızlı bir şekilde çalkalandı. Çökelme olduğunda karışım (çözünmeyen herhangi bir çökelti ile) GD sütununa aktarılmadan önce fazlası çıkarıldı ve GD sütunu yeni bir tüpe yerleştirildi.

- **Yıkama**

30 saniye boyunca 14–16,000 rpm'de döndürülmeden önce GD sütununa 400 mikrolitre W1Buffer eklendi. Daha sonra akış atıldı. 600 mL yıkama tamponu ilave edildi, GD kolonu 2 mL'lik toplama tüpüne yeniden yerleştirildi ve etanol eklendi. 14–16,000 rpm'de 30 saniye santrifüjledikten sonra, akışı atıldı ve ardından GD sütununa 2 mL'lik toplama tüpü geri konuldu. Ardından kolon matrisini kurutmak için 14–16,000 rpm'de santrifüj yapıldı.

- **DNA elüsyonu**

DNA, 1,5 mL'lik temiz bir eppendorf tüpüne aktarıldıktan sonra, kurutulmuş GD Kolonu ısıtılmış Elüsyon Tamponu1 ile 3 dakika karıştırıldı. Saflaştırılan DNA'yı ayrıştırmak için 14–16,000 rpm'de 30 saniye santrifüj yapıldı.

3.2.9.2 Hedef genlerin PCR ile tespiti

UmoD ve RffGD genleri, Çizelge 3.5'te belirtilen primerler kullanılarak çoğaltıldı. 2 mililitrelik reaksiyon tüplerine; 5 mikrolitre Ana Karışım, her gen için 1 mikrolitre ileri ve ters primeri, 3 mikrolitre DNA şablonu nükleaz içermeyen su ile dolduruldu. Elde edilen sonuçlar, %1,5 agaroz jel içinde 70 V'ta 45-60 dakika gözlemlendi. Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7'de, UmoD ve RffGD genleri için PCR programları gösterilmektedir.

Çizelge 3.6 UmoD gen programı

Adım	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
İlk denatürasyon	94	3 dakika	1
Denatürasyon	94	30 saniye	35
Tavlama	53	40 saniye	
Eklenti	72	60 saniye	
Son uzatma	72	5 dakika	1

Çizelge 3.7 RffGD gen programı

Adım	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
İlk denatürasyon	95	5 dakika	1
Denatürasyon	95	30 saniye	30
Tavlama	56	30 saniye	
Eklenti	72	60 saniye	
Son uzatma	72	7 dakika	1

3.2.9.3 Agaroz jel elektroforezi

- Bir ve 1,5 gr agaroz 100 mL 1X TBE tamponuna karıştırıldıktan sonra sıvı manyetik karıştırıcılı sıcak bir plaka üzerinde ısıtılmalı ve kap hava almaması için alüminyum

folyo ile kağatılmıştır. Çoğaltılmış genlerin saptanması için PCR sonrasında %1,5 agaroz, DNA ekstraksiyon işleminden sonra elektroforez için %1 agaroz kullanılmıştır.

- Sıcak plakadan çıkarıldıktan sonra 45 ile 55°C derece arasında soğuması için beklenilmiştir.
- Jel daha sonra 12 mL güvenlik boyası ile karıştırılır ve tam entegrasyon elde etmek için dikkatlice döndürülmüştür.
- Haznenin üzerine on altı dişli uygun bir tarak konur ve ardından agaroz jel içinde yıkanmıştır.
- Agaroz solüsyonu hazneye döküldükten sonra erimiş jelden hava kabarcıklarını kolayca çıkarmak için bir mikropipet ucu kullanılmıştır.
- Oda sıcaklığında otuz dakika katılaştıktan sonra tarak ve band jelden dikkatlice çıkarılmıştır.
- Katılaştırmanın son aşamasından sonra tarak yavaşça çıkarılmış ve elektroforez tankı TBE tamponu ile doldurulmuştur. Hazne daha sonra tanka yerleştirilmiştir.
- İzole edilmiş DNA numuneleri veya PCR sonuçları üzerinde, 5 µL DNA'yı 2 µL yükleme boyası (bromotimol mavisi) ile karıştırarak, karışım uygun kuyucuklara yükleyerek elektroforez (1 saat 70V) yapılmıştır.
- Son adım, jel boyunca geçirilen UV ışığı (300 nm) kullanılarak nükleik asit veya PCR ürününün incelenmesidir (Tang *et al.* 2006).

3.2.10 Gümüş nanopartikül miktarı

9 mL damıtılmış su içeren bir tüpe 50 mikrolitre dimetil sülfoksit (DMSO) eklenmesi, 0,5 gr gümüş nanoparçacıkların çözülmesi sürecine yardımcı olur. 50 mg/mL stok solüsyonu oluşturmak için hacmi 10 mL'ye çıkarılır. Bu solüsyon 2,5, 5, 7,5, 10, 12,5, 15, 17,5, 20, 22,5 ve 25 mg/mL gradyan konsantrasyonlarını oluşturmak için kullanılır. Antibakteriyel aktivite, Mueller-Hinton agar plakası ve agar kuyusu difüzyon tekniği kullanılarak belirlenmiştir. 2,5-25 mg/mL konsantrasyonlara sahip nanoparçacık numuneleri oluşturulduktan sonra her kuyucuğa 0,5 mikrolitre numune konur. Bunu takiben, olağan koşullar altında plaklar inkübe edildiğinde, agardaki kuyucukların çevresinde gelişen inhibitör hale, cm cinsinden ölçülür (Charannya *et al.* 2018).

3.2.10.1 Bakterilerin nanopartiküller ile inkübasyonu

Tüm bakteriler üremesi için beyin kalp infüzyon suyu içinde 37°C derecede 18 saat gelişmeye bırakıldı. Daha sonra 100 mL (0,5 McFarland) taze bakteri solüsyonu nanopartikül içeren eppendorf tüplerine ayrı ayrı aktarıldı. Bunlar, bir sonraki adımda kullanılmadan önce inkübatörde 24 saat 37°C'de tutuldu.

3.2.11 Gerçek zamanlı PCR

Dört farklı aşama ile işlemler gerçekleştirilmiştir.

3.2.11.1 RNA ekstraksiyonu

Beyin kalp infüzyon suyun'da gerçekleşen bakteriyel büyümenin toplanması ve hasat edilmesinin ardından, izolatların toplam RNA'sı, öngörülen tekniğe uygun olarak ekstre edildi. Uygulanan protokolün aşamaları aşağıdaki gibidir:

Numune parçalama

- 1,5 mililitre RNaz içermeyen sıvı içeren bir mikrosantrifüj tüpüne 109 adet bakteri hücresi eklendi.
- 12-16,000 xg arasında değişen bir hızda 2 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatan atıldı.
- 10 mg lizozim tozu, 1,5 mL'lik yeni bir ependrof tüpüne aktarıldı, 1 mL bakteri lizis tamponu eklendi ve tüp, lizozim tozu tamamen eriyene kadar çalkalandı.
- Bakteri hücresi pelletine 100 mikrolitre miktarında lizozim içeren bakteri lizis tamponu eklendi.
- Numune oda sıcaklığında beş dakika inkübe edildi.
- 700 mikrolitre GENEzolTM Reaktifi ilave edildi ve çözelti, oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmeden önce pipetle iyice karıştırıldı.

DNA bağlanması

- Hücre artıklarını çıkarmak için numune 1 dakika 12–16,000 xg'de santrifüj edildi. Daha sonra, berrak süpernatanı aktarmak için yeni bir 1,5 ml'lik eppendorf tüpü kullanıldı.
- GENEzolTM Reaktifine, 1 hacim numune kombinasyonuna doğrudan (1:1) 1 hacim mutlak etanol eklendi.
- Vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra, 2 mL'lik toplama tüpüne bir RB kolonu eklendi.
- Numune karışımı 700 mL RB kolonuna aktarıldı. 14–16,000xg'de bir dakika boyunca santrifüjlendi ve ardından akış atıldı.
- Kalan örnek karışımı RB kolonuna aktarılarak, RNA bağlama adımı yeniden başlatıldı.
- 14–16,000 xg'de 1 dakika santrifüjlendi ve akış atıldı. Bundan sonra RB kolonu, 2 milimetrelik yeni bir toplama tüpü içine konuldu.

RNA yıkama

- 400 mL ön yıkama tamponu RB kolonuna (etanol içerir) eklendi. Sütun daha sonra 30 saniye boyunca 14–16,000xg santrifüjlendi.
- Akış atıldıktan sonra RB kolonunu 2 mL toplama tüpüne yeniden yerleştirildi.
- RB kolonu üzerine 600 mL yıkama tamponu ve etanol eklendi.
- 14-16,000xg'de 30 saniye santrifüjlendi, ardından akışı atıldı. Daha sonra RB kolonu 2 ml'lik toplama tüpüne geri konuldu.
- RB kolonuna 600 mL yıkama tamponu konuldu.
- 14-16,000 x g'de 30 saniye santrifüjlendi, ardından akışı atıldı.
- Ardından RB kolonu 2 mL toplama tüpüne yeniden yerleştirildi.

RNA elüsyon

- 1,5 mL'lik temiz bir ependrof tüpüne kuru RB kolonu yerleştirildi.

- Ardından 25–50 mL RNaz içermeyen suyla doldurulduu.
- Matrisin tüm RNaz içermeyen suyu emmesini sağlamak için en az üç dakika beklendi.
- Elde edilen saflaştırılmış RNA'yı çıkarmak için 4-16,000 xg'de bir dakika boyunca santrifüj yapıldı.

3.2.11.2 RNA miktarının belirlenmesi

NanoDrop spektrofotometresi kullanılarak RNA'nın saflığını ve konsantrasyonu belirlendi ve 260/280 nm absorbansta ölçümler yapıldı (Desjardins and Conklin 2011).

3.2.11.3 RNA ters transkriptaz

cDNA sentezi

cDNA sentezi için reaksiyon bileşenleri Çizelge 3.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8 cDNA reaksiyon bileşeni

Bileşen	Hacim
Toplam RNA/mRNA	50 ng-5 µg/
Oligo (dT) primeri (0,5 µg/mL)	1 µL
Rastgele primer (0,1 µg/mL)	1 µL
GSP	2 pmol
2x TX Mix reaksiyonu	10 µL
Transkript RNA/ RI enzim Karışımı	1 µL
gDNA çıkarıcı	1 µL
RNaz içermeyen su	20 µL

Kuluçka

- Oligo (dT) ve GSP 40°C'de 15 dakika inkübe edildi.
- Rastgele primer, 25°C'de 10 dakika, ardından 42°C'de 15 dakika tutuldu.
- Enzimin çalışmasını durdurmak için 85°C'de 5 saniye tutuldu.

3.2.11.4 Gen ifadesi

Proteus izolatlarının AgNP işleminden önce ve sonra FliL ve UmoD genleri ile ekspresyonu araştırıldı. İki aşamada FliL ve UmoD genlerinin ekspresyonu, RT-qPCR kullanılarak değerlendirildi. Hedef genler olarak FliL ve UmoD, temizlik geni olarak da rpoA kullanıldı.

Çizelge 3.9'da, FliL, UmoD ve rpoA genleri için primer dizileri gösterilmiştir. RT-PCR reaksiyon karışımı (20 µL), 3 µL örnek cDNA, 1 µL ileri ve ters primer, 12,5 µL PCR ana karışımı ve steril deiyonize sudan oluşmaktadır (Çizelge 3.10). qPCR yöntemi üç kez tekrarlanmıştır. Çizelge 3.11'de qPCR programı belirtilmiştir.

Çizelge 3.9 FliL, UmoD ve rpoA genlerini primer dizilerini

Gen	Primer dizimi	Referans
FliL	F: GGTGATGCCATTATTGCAG R: AGCGTAACGTGATCCCTATG	(Cusick *et al.* 2012).
UmoD		Bu çalışmada
rpoA	F: GCGTGTTATAGCCAGTTGA R: AGGCTGACGAACATCACGTA	(Cusick *et al.* 2012).

Çizelge 3.10 RT-PCR'nin reaksiyon bileşeni

Bileşen	Hacim
cDNA	3 µL
İleri astar (10 µM)	1 µL
Geri astar (10 µM)	1 µL
2x Trans süper Mix II	12,5 µL
Deiyonize su	2,5 µL
Toplam hacim	20 µL

Çizelge 3.11 qPCR programı

Aşama	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
İlk denatürasyon	94	3 dakika	1
denatürasyon'	94	20 saniye	40
Tavlama	60	60 saniye	
Eklenti	72	20 saniye	
Son uzatma	85	5 dakika	1

Kantitatif RT-qPCR için orantısal ifadelerin hesaplanmasında Thrshold Cycle (CT) formülü kullanılmıştır (Livak and Schmittgen 2001).

3.3 İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin değerlendirilmesinde SPSS paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

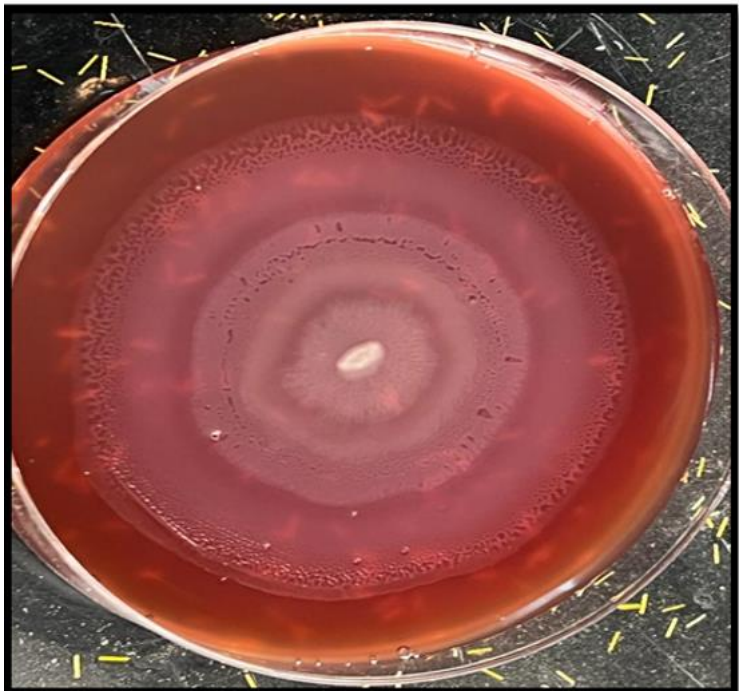
4.1 Bakteriyel İzolasyon ve Tanımlama

Thi-Qar ili/Irak'taki AL-Hussein Eğitim Hastanesinin üroloji konsültasyon kliniğinde idrar yolu enfeksiyonu (60 hasta) ve yara enfeksiyonu (40 hasta) olan toplam 100 hastadan örnek alınmıştır.

Şekil 4.1'de görüldüğü gibi, izolatların %26'sı laktozu sindirmeyen soluk koloniler sergilemiştir. Ayrıca, kanlı agarda yetiştirildiğinde, izolatların tümü, Şekil 4.2'de görüldüğü gibi gözle görülür şekilde kaynaşmıştır. İzolatların 74'ünde (%74) *Enterobacteriaceae* familyasına ait başka bakteriler bulunurken 26'sında (%26) *Proteus* spp. tanımlanmıştır.



Şekil 4.1 Proteus türlerinin MacConkey agar üzerinde gelişimi



Şekil 4.2 Proteus türlerinin kanlı agar üzerinde gelişimi

Çizelge 4.1'de belirtildiği gibi, Proteus spp. 26 idrar örneğinin 21'inde (%80,8) ve 26 yara örneğinin 5'inde (%19,2) tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 Yara ve İYE örneklerinde izole edilen bakteri kültürünün yüzdesi

Bakteri türleri	**Sayı**	**Yüzde (%)**
Proteus türleri	26	%26
Diğer bakteri türleri	74	%74
Toplam	**100**	**100**

4.2 Mikroskobik ve API 20E Sistemi ile Teşhis

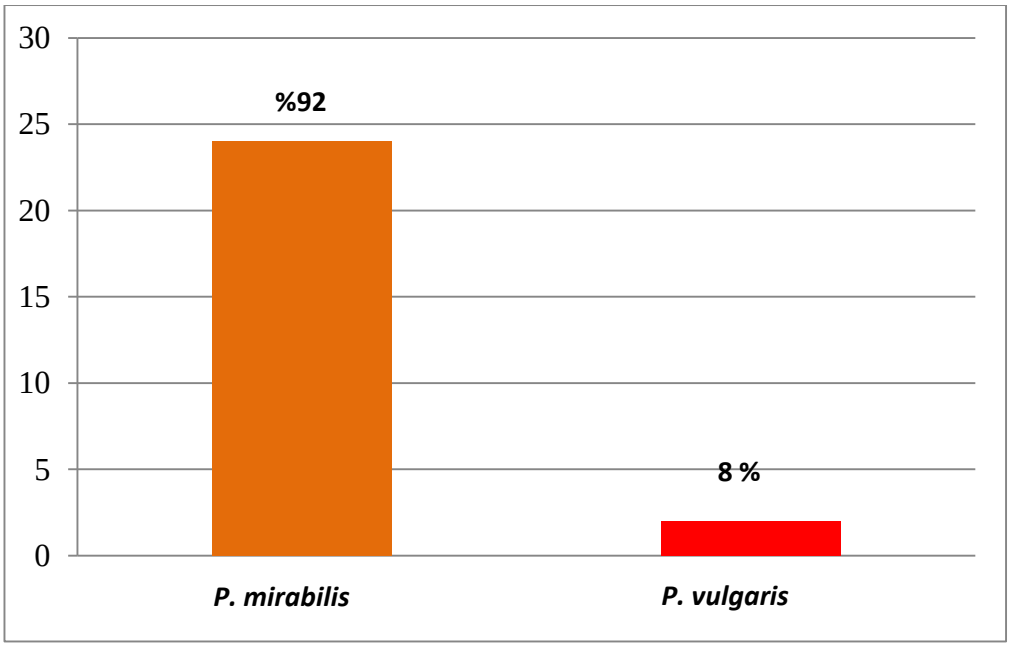
Tüm izolatlar, Gram boyama ile boyandıktan sonra mikroskop altında incelendi. Gram negatif bakteriler, çubuk şekilli olarak ortaya çıktı.

İzolatlar, API20E yöntemi kullanılarak cins ve tür seviyelerinde tanımlanmıştır. API 20E sisteminin bulguları, Şekil 4.3'te görüldüğü gibi, Proteus izolatları için tamamen pozitiftir. Biyokimyasal testler, besiyerindeki mikroskobik ve morfolojik özellikler ve

API20E sistemi kullanılarak tespit edilen tüm Proteus türleri sonrasında bu izolatların (24/26; %92) *P. mirabilis* ve (2/26; %8) *P. vulgaris* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4).



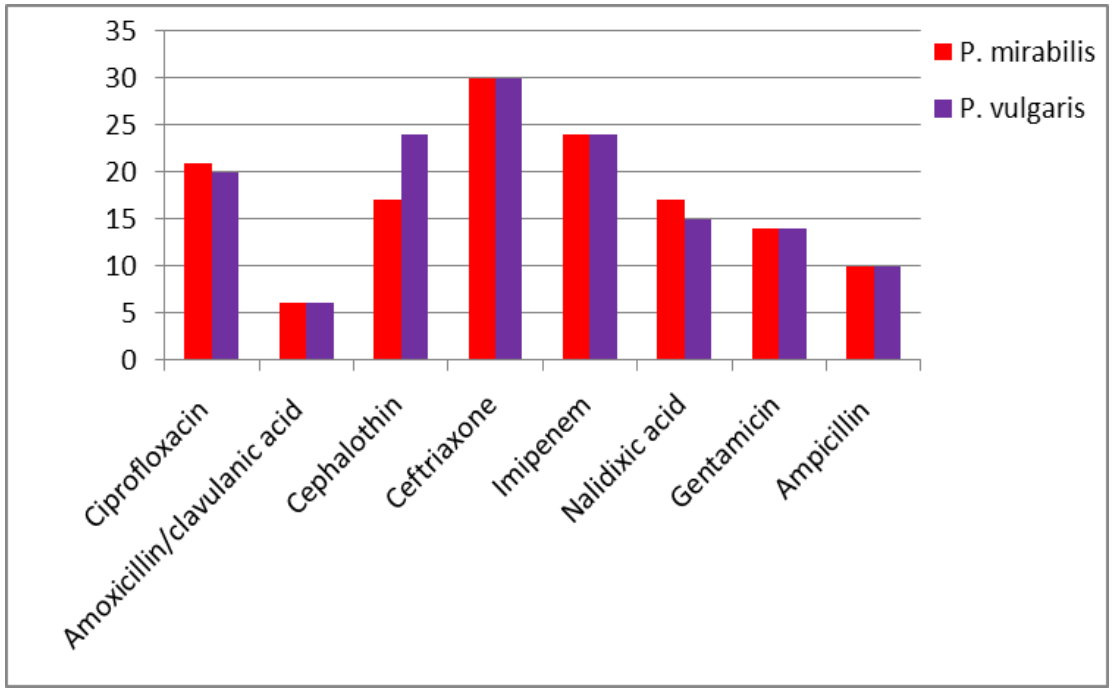
Şekil 4.3 *P. mirabilis*'in API 20E yöntemi kullanılarak tespiti



Şekil 4.4 Yara ve İYE örneklerinden izole edilen Proteus türleri ve yüzdeleri

4.3 Antibiyotik Duyarlılık Testi

P. mirabilis ve *P. vulgaris* kültürlerinin tamamına antibiyotik direnç testi uygulanmıştır. *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatlarının tamamı ampisilin, siprofloksasin ve amoksisilin/klavulanik aside dirençli (%100) olarak tespit edilmiştir. Sefalotine karşı *P. vulgaris* dirençlidir. Her iki Proteus türü izolatlarının yaklaşık %95'i Seftriakson ve Imipenem'e duyarlı olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatlarının bazı antibiyotik disklerine karşı antibakteriyel direnci

4.4 Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Tayini

AgNP'lerin antibakterial etkisi, seyreltme yöntemi kullanılarak test edilmiştir. AgNP'lerin *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatlarına karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) 10 mg/mL olarak belirlendi (Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3). Bu nedenle Proteus spp. izolatlarının kaybına neden olan AgNP'ler, nanopartikülün kademeli olarak artan konsantrasyonuna bağlı birkaç mekanik direnci ters çevirme yeteneğine sahip olabilir.

Çizelge 4.2 *P. mirabilis*'e karşı AgNP'ler için MİK değerleri

İzolatlar	AgNP konsantrasyonu (mg/mL)									
	2,5	**5**	**7,5**	**10**	**12,5**	**15**	**17,5**	**20**	**22,5**	**25**
P. mirabilis 1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 2	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 4	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 6	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 7	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 8	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 9	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 11	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 12	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. mirabilis 13	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 4.3 *P. vulgaris*'e karşı AgNP'ler için MİK değerleri

İzolatlar	AgNP konsantrasyonu (mg/mL)									
	2,5	**5**	**7,5**	**10**	**12,5**	**15**	**17,5**	**20**	**22,5**	**25**
P. vulgaris 1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P. vulgaris 2	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

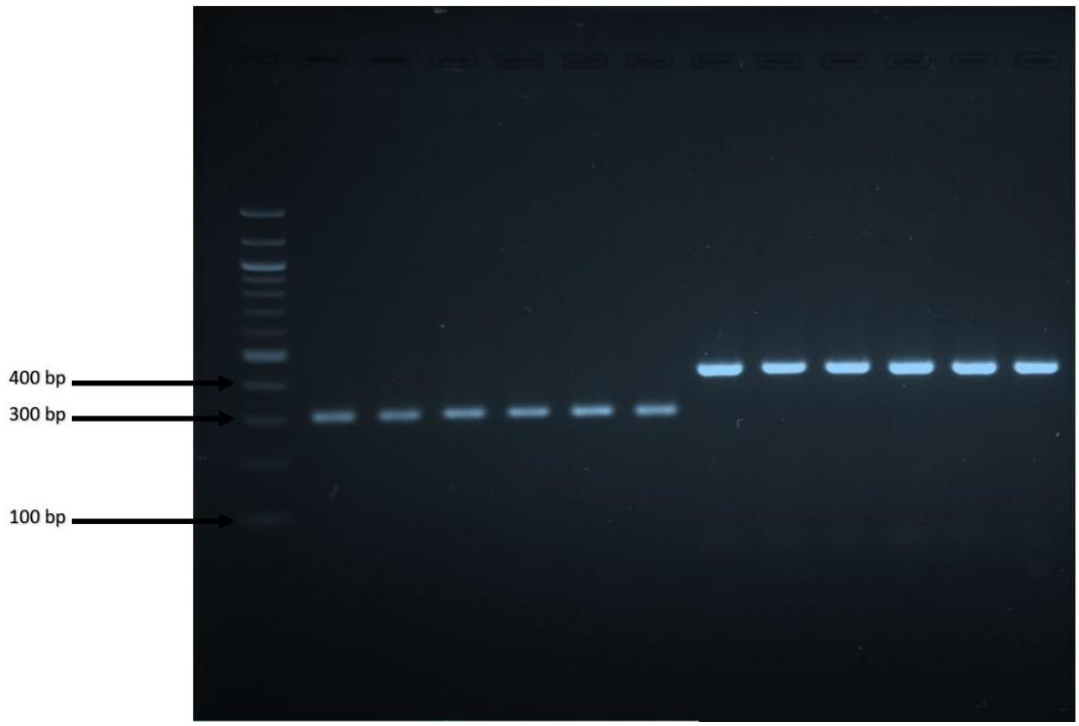
4.5 Moleküler Tanı

Proteus'un doğrulayıcı kimliği moleküler teknikle belirlenmiştir. Buna göre *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatlarının (26/26; % 100) yara ve İYE örneklerinden izole edilen UmoDD geni için pozitif sonuçlar verdiğini göstermiştir. Ayrıca, İYE ve yara örneklerinden toplanan Rffgd genini barındıran Proteus türlerinin toplam yüzdesi % 100 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Proteus izolatlarında UmoD ve RffGD genlerinin dağılımı

Örneklem / **Gen**	**Yara ve İYE Sayı= 26**	**P. değeri**
UmoD	26 (%100)	0,000
RffGD	26 (%100)	

UmoD'nin PCR tahliline göre, Şekil 4.6'da gösterilen bantlar, bu genin boyutunun yaklaşık 304bp, RffGD genini ise 429bp olduğunu ortaya çıkarmıştır.



Şekil 4.6 UmoD ve RffGD genlerinin amplifikasyonu

4.6 Gen İfadesi

Bu bölüm dört alt başlık altında incelenmiştir.

4.6.1 FliL gen ifadesi için qPCR sonuçları

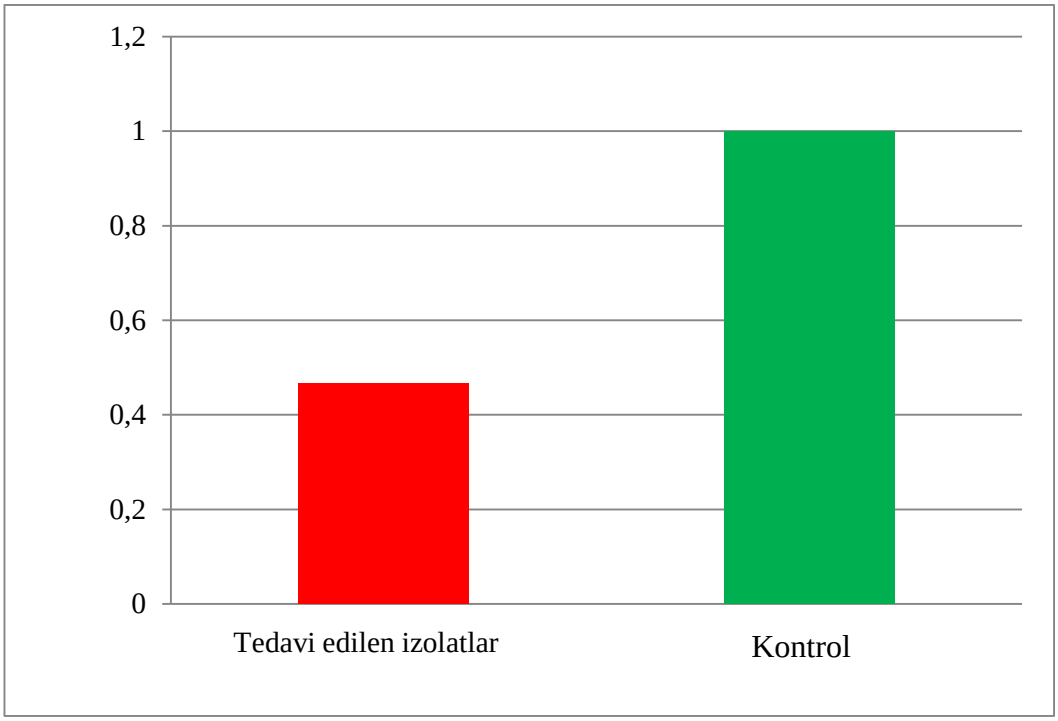
Yara ve İYE örneklerinde plot amplifikasyonunun sayı eşik döngüsünün (BT) hedef gene ve temizlik geni olarak rpoA'ya oranına bağlı olan rpoA geninin normalleştirilmiş gen ekspresyonu kullanılarak, RT-qPCR'nin kantitatif gen ekspresyonu hesaplanmıştır. FliL seviyesindeki nispi nicelik değişikliği sayesinde *Proteus*'taki rpoA genleri izole edilir. İYE'nin *Proteus* enfeksiyonu sırasında seçilen FliL gen ekspresyonu, Ag nanopartikülleri ile muamele edilmiş İYE *Proteus* izolatları ile muamele edilmemiş İYE *Proteus* izolatları arasında önemli farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur.

4.6.2 Proteus izolatlarında FliL geninin ifadesi

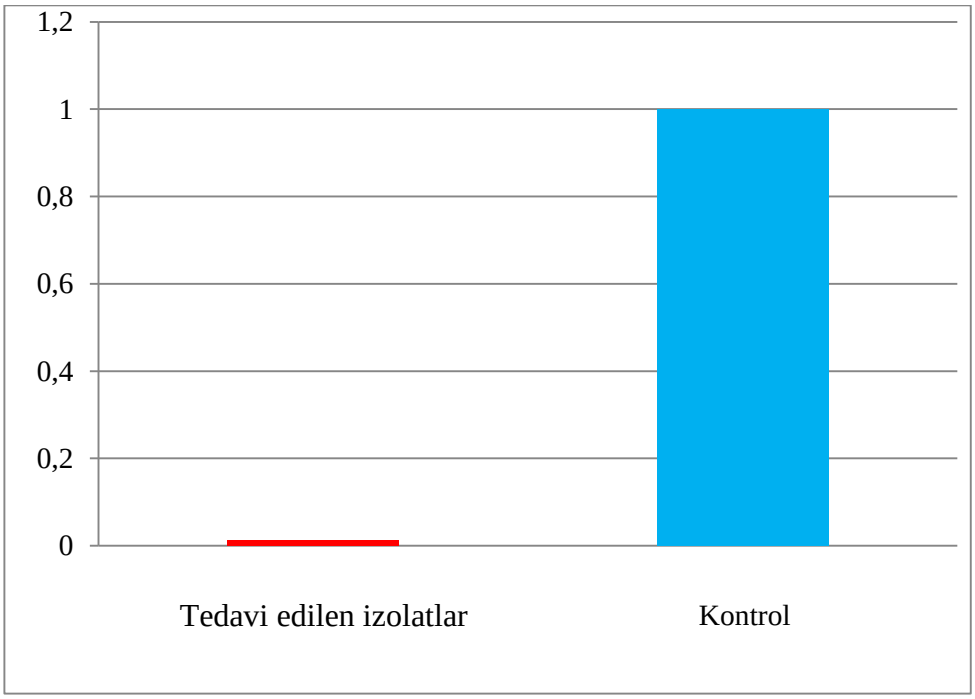
FliL geninin ekspresyonu, Çizelge 4.5 ve Şekil 4.7'de gösterildiği gibi, *P. vulgaris*'te, kontrol grubu ve tedavi edilen izolatlar arasında önemli azalma tespit edilmiştir. Aynı şekilde *P. mirabilis* kontrol grubunda önem seviyesini korurken tedavi edilen izolatlarda hemen hemen yok olmuştur (Şekil 4.8).

Çizelge 4.5 Proteus türlerinde FliL gen değişimi

İzolat sayısı	***Proteus* türleri**	**9 mg\mL'de kat değişimi**
1	*P. mirabilis*	0,06886907
2	*P. mirabilis*	0,08777781
3	*P. mirabilis*	0,13584186
4	*P. mirabilis*	0,12242754
5	*P. mirabilis*	0,0438889
6	*P. mirabilis*	0,23325825
7	*P. mirabilis*	0,06983045
8	*P. mirabilis*	0,06934809
9	*P. mirabilis*	0,07910979
10	*P. mirabilis*	0,46329403
11	*P. mirabilis*	0,13678671
12	*P. mirabilis*	0,31425334
13	*P. mirabilis*	0,13121459
1	*P. vulgaris*	0,8122524
2	*P. vulgaris*	1,05701804



Şekil 4.7 *P. vulgaris*'te FliL genlerinin bağıl ifadesi



Şekil 4.8 *P. mirabilis*'te FliL genlerinin bağıl ifadesi

4.6.3 UmoD gen ifadesi için qPCR sonuçları

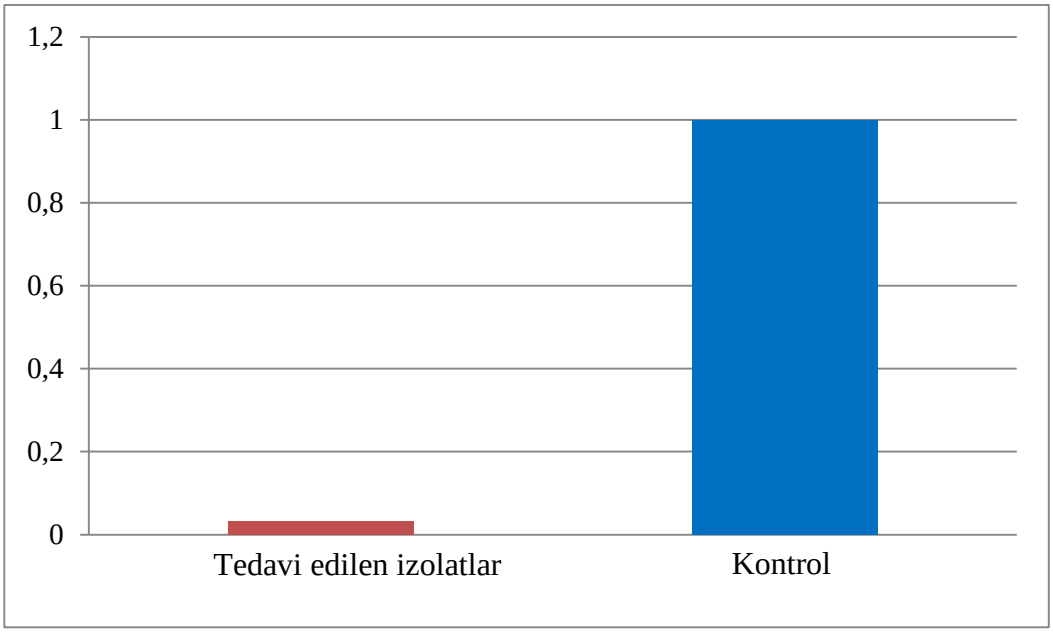
Kantitatif gen ekspresyonu (RT-qPCR), *Proteus* izolatlarındaki UmoD ve rpoA genlerinin zaman içinde ne kadar değiştiğini anlamak için kullanılmıştır. Bu, yara ve İYE örneklerinde rpoA geninin normalize edilmiş gen ekspresyonu kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntem, hedef gen ve temizlik geni olan rpoA'ya amplifikasyonunun eşik döngülerinin (CT) numaralandırma oranına dayalıdır. Proteus'un neden olduğu İYE sırasında belirli bir UmoD geninin mRNA ifadesi, Ag nanoparçacıkları ile tedavi edilmiş Proteus izolatları ile tedavi edilmemiş olanlar arasında farklılık göstermektedir.

4.6.4 İYE örneklerinde UmoD geninin ifadesi

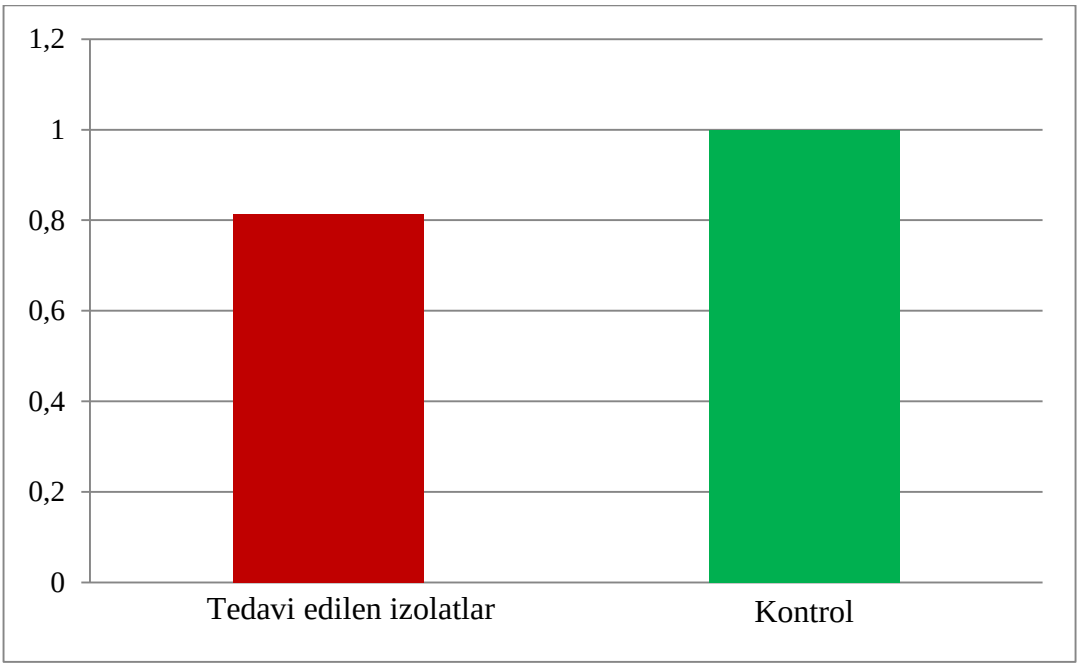
Çizelge 4.6 ve Şekil 4.9'da, UmoD geninin ifadesi, *P. mirabilis*'in kontrol grubunda önem seviyesini korurken tedavi edilen izolatlarda hemen hemen yok olmuştur. Aynı şekilde *P. vulgaris*'te, kontrol grubu ve tedavi edilen izolatlar arasında önemli azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

Çizelge 4.6 Proteus türlerinde UmoD gen değişimi

İzolat sayısı	***Proteus* türleri**	**9 mg\mL'de kat değişimi**
1	*P. mirabilis*	0,81225
2	*P. mirabilis*	0,63728
3	*P. mirabilis*	0,34628
4	*P. mirabilis*	0,29321
5	*P. mirabilis*	0,20733
6	*P. mirabilis*	0,20306
7	*P. mirabilis*	0,10439
8	*P. mirabilis*	0,43528
9	*P. mirabilis*	0,80664
10	*P. mirabilis*	0,33217
11	*P. mirabilis*	0,62417
12	*P. mirabilis*	0,11034
13	*P. mirabilis*	0,61985
1	*P. vulgaris*	1,292353
2	*P. vulgaris*	1,95884



Şekil 4.9 *P. mirabilis*'te UmoD genlerinin bağıl ifadesi



Şekil 4.10 *P. vulgaris*'te UmoD genlerinin bağıl ifadesi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Bakteri İzolasyonu ve Teşhisi

100 İYE ve yara örneğinden elde edilen izolatların sadece 26'sı, MacConkey agar üzerinde laktoz olmayan açık renkli kolonileri ve Proteus türleri tanımlanmıştır. Koloni büyüklüğü, şekli, rengi, doğal renkleri, saydamlığı, kenarı, yüksekliği, dokusu ve MacConkey agar üzerindeki laktoz fermantasyonu, *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatlarını birbirinden ayıran morfolojik özelliklerden bazılarıdır. Tüm *Proteus* spp.'yi tanımlamak için morfolojik ve mikroskobik özellikler kullanıldıktan sonra kültür ortamında API 20E sistemi kullanılarak biyokimyasal testler yapıldı.

Kan ve MacConkey agar petri kaplarındaki toplam pozitif kültürlerin yalnızca %37,5'i *P. mirabilis* için pozitif sonuç vermiştir (Raheem *et al.* 2016). Yapılan araştırmacılara göre, izolatlar hareketlidir (sürü fenomeni), soluk laktoz fermente etmemiştir ve kanlı agarda hemoliz kolonileri oluşturmakatdır (Atlas and Snyder 2006).

Proteus türlerinin çeşitli habitatlarda gösterdiği yayılım, yaygınlık oranlarındaki belirsizliğin nedeni olabilir (Mordi and Momoh 2009). Proteus spp. Oguachuba (1985)'ya göre yaradan en yaygın olarak bulunan koliformlar olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, dört patojenik Proteus türünden en önemli ikisinin *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* olduğunu bunları sırasıyla *P. rettgeri* ve *P. morgani*'nin izlediği tespit edilmiştir.

Gram negatif fakültatif anaerobik basiller arasında en sık izole edilen organizma Proteus türleri olmuştur. Buna karşın, Kehinde (2004) yapmış olduğu çalımada, yanık yaralarında en yaygın olarak Klebsiella türlerinin (%34,4) bulunduğunu bunu Pseudomonas (%29) ve Proteus türlerinin (%6,5) takip ettiğini tespit etmişlerdir. Ihanni *et al.* (2003) tarafından yapılan çalışmada, gram negatif organizmaların farklı prevalans oranları keşfedilmiştir. Proteus türleri en az görülen bakteri türleri olarak belirlenmiştir (Oni *et al.* 1997). 2,000'den fazla idrar örneğinin incelenmesi sonucunda yalnızca %5,4 oranında *P.*

mirabilis tespit edilmiştir. *P. mirabilis* ayrıca önemli antimikrobiyallere karşı dirençle ilgili olarak üçüncü en yaygın İYE patojeni olarak bilinmektedir (Haindongo *et al.* 2022).

Yapılan çalışmalarda, *P. mirabilis*'in diğer Proteus spp.'den daha fazla izole edildiği belirlenmiştir (Mordi and Momoh 2009, Auwaerter 2008). Zafar *et al.* (2019) tarafından yapılan çalışmada, 64 (%13,3) numunenin seçici ve diferansiyel ortamlar, Gram boyama ve biyokimyasal testler kullanılarak *P. mirabilis* olarak tanımlanabileceği belirtilmiştir. Alsherees *et al.* (2016), *P. mirabilis* oranını idrar örneklerinde yara örneklerine göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Shoket *et al.* (2016), *P. mirabilis* oranını idrarda ve yaralarda %56,9 olarak tespit etmştir.

5.2 Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibiyotik duyarlılık testleri sonuncunda tüm *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatları ampisilin, siprofloksasin ve amoksisilin/klavulanik aside karşı dirençli bulunmuştur. Proteus türü izolatlarının yaklaşık %95'i seftriakson ve imipenem'e karşı duyarlıyken, *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* izolatlarının %90'ı nalidiksik asit ve gentamisine karşı orta derecede dirençli olarak belirlenmiştir.

Proteus türlerinin çoğu, en sık kullanılan ilaçlara karşı son derece dirençlidir (Steward and Beswick 1977). 2009 yılında (Mordi and Momoh 2009), tüm Proteus türlerinin ofloksasine, siprofloksasin, aminoglikozide ve florlu bir kinolon olan gentamisin'e, duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Proteus türleri, plazmid ve kromozomal beta-laktamaz üretimi yoluyla antibiyotik direnci geliştirebilir (Song *et al.* 2011). Beta-laktamaz'ı yöneten genlerin değiştirilmesinin, enzim aktivitesinin yanı sıra sefotaksim, seftriakson, sefuroksim ve penisiline dirençle sonuçlandığı tespit edilmiştir (Livermore *et al.* 2001).

Zafar *et al.* (2019) *P. mirabilis* izolatlarının, Gentamisine %78 ampisilin %87,5, sefuroksim %95,3, seftriakson %89, seftazidim %92,1, imipenem %96,8 ve siprofloksasine %85,9 oranında dirençli olduğunu belirtmiştir.

Haindongo *et al.* (2012) tarafından yapılan çalışmada, amoksisilin-klavulanik asit, sefuroksim ve gentamisin direnç oranlarının %12,3 ile 22,4 arasında değiştiği, Seftriakson ve imipeneme duyarlı olmasına rağmen izolatların %38'inin nalidiksik asite direnç gösterdiği belirtilmiştir.

Saleh *et al.* (2019) göre, *P. mirabilis* ve *P. vulgaris*, meropnem, imipnem, siprofluxacen, gentamisin, klavulanik asit, amoksisilin ve levofloksasine karşı dirençli bulunmaktadır. Cephalothin ise iki türü farklı şekilde etkilemiştir. *P. mirabilis* izolatlarının %100'ü, *P. vulgaris* izolatların sadece %20'si duyarlı olarak belirlenmiştir.

P. vulgaris üzerinde Sefalotini'nin hiçbir etkisi olmamıştır. Kadhum (2010) tarafından yürütülen araştırmaya göre, *P. vulgaris* sefalotine tamamen dirençli olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, siprofloksasin, gentamisin ve amikasin, izolatların sırasıyla %96,6, %80 ve %65,7 oranlarında direnç göstermiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, *P. vulgaris* izolatlarının sadece ampisilin ve sefuroksime dirençli olduğu tespit edilmiştir (Samsuddin *et al.* 2018). Bununla birlikte, geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL'ler), Proteus türlerinin; sefotaksim, seftazidim ve seftriaksonun yanı sıra aztreonam, monobaktam, sefamisinler (sefmetazol, sefoksitin ve sefotetan) ve karbapenemlere (meropenem ve imipenem) karşı duyarlılığına katkıda bulunmaktadır.

5.3 Ag Nanopartiküllerin Antibakteriyel Aktivitesi

Ag nanopartiküller, tüm *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* kültürüne karşı antibakteriyel aktivite açısından incelendi. Hem *P. mirabilis* hem de *P. vulgaris* için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) 10 mg/mL olarak belirlendi. AgNP'lerin antibakteriyel mekanizmasını belirlemek için çok sayıda araştırma yapılmıştır. Örneğin, nanoparçacıkların yüzeyindeki AgNP'ler, bakterinin hücre zarına bağlanarak zarın geçirgenliğinin bozulmasına, çok sayıda gözenek ve yarık oluşmasına ve hücre içi içeriğin akışına neden olabilir (Raffi *et al.* 2009). Reaktif oksijen türleri (ROT), DNA'ya zarar veren nanoparçacıkların yüzeyindeki AgNP'lerden salınır (Chen *et al.* 2012)

Saleh *et al.* (2019) tarafından yapılan çalışmada AgNP'lerin *P. mirabilis* ve *P. vulgaris*'in büyümesi için MİK değeri 10 mg/mL'dir. Ayrıca, Proteus spp. izolatları, TiO_2 NP konsantrasyonunda sürekli bir artışa bağlı olarak bazı mekanik dirençleri tetikleyebilir, bu da tüm izolatların kaybına neden olur.

Raheem *et al.* (2016)'e göre, Proteus spp.'ye karşı AgNP'lerin minimum inhibe edici konsantrasyonu (MİK) 10 g/mL ile 16 g/mL arasında tespit edilmiştir. Ancak Proteus türlerinin tedavisi sırasında AgNP'lerin minimum inhibe edici konsantrasyonu (MİK) 50 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Buszewski *et al.* 2018).

5.4 UmoD ve RffGD'nin PCR Tespiti

UmoD ve Rffgd genleri için PCR bulgularında *Proteus* izolatlarının hepsinin (%100) her iki gene de sahip olduğunu ortaya çıkmıştır. UmoD ve Rffgd genleri, bakteri türünü belirlemek için kullanılır. PCR, bakterileri tanımlamak için geleneksel biyokimyasal testlerden daha etkili olan moleküler bir yaklaşımdır (Patel 2001). Ayrıca, PCR tanı koymak için basit, güvenilir, doğru ve hızlı bir yöntemdir (Barbut *et al.* 2011). (Al-Imam and AL-Rubaii 2016, Al-Saadi *et al.* 2015) yaptıkları çalışmalarda, yaptıkları PCR deneyleri *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* için birçok yönden fenotipik ve biyokimyasal tekniklerden daha iyi performans göstermiştir. UmoD, insan idrarında en yaygın protein olan üromodülini kodlar (Devuyst *et al.* 2017). Üromodülin, 7-N-glikosilasyon bölgelerine sahip glikosile edilmiş bir proteindir. Tübülün lümenine boşaltılmadan önce, serin proteaz hepsin C-terminalinin ucunu keser (Brunati *et al.* 2015). Üromodulinin işlevi, kalsiyum oksalat kristallerinin oluşumunu önlemek (Mo *et al.* 2004), üriner sistemi üropatojenik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlardan korumak (Raffi *et al.* 2009, Schaeffer *et al.* 2021) ve Ca^{2+}, K+ iyon kanalını regüle etmektir (Schaeffer *et al.* 2021, Trudu *et al.* 2013) UmoD'deki mutasyonlar, tümü ER stresine ve katlanmamış protein tepkisine katkıda bulunan gecikmiş olgunlaşma, ER tutulması, plazma zarında ifade azalması ve azalmış idrar çıkışına neden olur (Schaeffer *et al.* 2017).

UmoB ve UmoD aşırı eksprese edildiğinde, vahşi tip hücreler daha fazla kümelendi, ancak UmoD, kesintiye uğramış bir Rcs fosforelay'e sahip hücrelerle karşılaştırılabilir

kümelenme seviyeleri ile daha belirgin bir fenotip üretti. UmoD, FLHDC ifadesini aynı şekilde düzenler. UmoD yukarı yönde hareket eder ve UmoB'nin çalışması için gereklidir (Dufour *et al.* 1998). Bunun nedeni, UmoB'nin aşırı ekspresyonunun, bir UmoD mutasyonunun oğul verme üzerindeki etkisini önleyebilmesine karşın, bunun tersini yapamamasıdır. Verilerimiz bu bulguları desteklemekte ve UmoD ve UmoB'nin Rcs fosforelay'ını inhibe ederek FLHDC'yi aktive etmede rol oynayabileceğini belirterek bunlara ek yapmaktadır. UmoD ve UmoB genlerine sahip mutantlar sürü oluşturamaz, ancak bir RcsB mutasyonu bu sorunu düzeltebilir.

5.5 Proteus İzolatlarında FliL ve UmoD Gen İfadesi

Antibiyotikler ve nanopartiküller, hem DNA ve RNA gibi temel moleküllerin replikasyonunu engelleyerek hem de protein üretimini bozarak bakterileri öldürürler (Corrêa *et al.* 2015). Gümüş katyonlarına (Ag+) direnç gelişimi, tıpkı bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi gibi, tıpta gümüş kompozitler kullanıldığında endişe verici hale gelmektedir (Raheem *et al.* 2016).

Bakterilerin bu metal nanoparçacıklara karşı dirençlerini artırmak için gerekli olan çeşitli gen değişikliklerine sahip olmaları pek olsı değildir (Hindi *et al.* 2009). Proteus spp. PATRIC ve PGAAP gen yorumlama servisleri kullanılarak yürütülen araştırmaya göre, genom, çeşitli oğul hücrelere karşı antibiyotik direnci, motilite, biyoflma sentezleri, enzimik toksisitenin giderilmesi ve bakterilerin antimikrobiyal ajanlarının ve metallerin etkilerinden kaçmak için kullandıkları akış sistemi için lokuslar içerir (McArthur and Wright 2015, Saeb *et al.* 2017).

5.6 Nanopartiküllerin FliL ve UmoD Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi

Ag nanopartikülleri ile 24 saat tedavi edilen *P. mirabilis* izolatlarında FliL geninin ekspresyonu, tedavi edilmeyen *P. mirabilis* izolatlarına kıyasla önemli ölçüde (P 0,05) daha düşüktür. *P. mirabilis* izolatlarında, nanoparçacık maruziyeti bu gen için Ct

değerlerini önemli ölçüde artırmıştır. FliL geninin ifadesi, Ag nanoparçacıklarına maruz kalan *P. vulgaris*'in kontrol örneklerinde daha fazla olarak bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlar, AgNP'lerin her iki MİK dozuyla 24 saatlik inkübasyonun ardından, FliL ve UmoD genlerinin ekspresyon paternlerinin değiştiğini göstermiştir. Kantitatif RT-qPCR, eşik döngüsü Ct tekniği kullanılarak belirlenerek sonuçlar kontrol grubuyla (benzer deneysel durumlarda NP'ler tarafından incelenmeyen izolatlar) karşılaştırılmıştır. Veriler, FliL geni ile oğul baskınlığı davranışı arasında bir bağlantı olduğunu ve bunun sonucunda gen ifadesinin tamamen bastırıldığını göstermiştir (Saleh *et al.* 2019).

AgNP'ler antibakteriyel madde olarak, FliL ve UmoD'nin gen ekspresyonunun azalmasına neden olmuştur. Buna karşılık, bekteri proteinlerini yok etmek, bakteri hücre duvarı ve zarının ve bakterilerin içyapılarının bozulması, iyon salınımı, oksidatif stres ve DNA hasarı gibi mikroblara karşı nanomateryal için antimikrobiyal gen ekspresyonundaki azalmadan sorumlu mekanizmaların olması mümkündür (Sharma *et al.* 2009, Attmannspacher *et al.* 2008).

Kuluçka veya nanoparçacıklar gibi kimyasallara maruz kalma, FliL geninin işlevini değiştirebilir. Tipik olarak flagilleri yapısal kodlayan FliL geni, hastalık veya kimyasal tedavi ile bozulduğunda, yalancı sürü hücreleri ortaya çıkar. Bu veriler, hiçbir uyaran olmadığında bile yüzey algılama yolunda FliL'nin mevcut olduğunu belirtir (Cusick *et al.* 2012). Yüzme hareketi FliL proteini gerektirmezken, ancak oğul verme hareketi FliL proteininin olmasını gerektirir (Shehab and Al-Rubaii 2019).

İzolatlar, kontrolünü en aza indirmek için FliL geni ile entegre olabilecek gümüş nanopartiküller tarafından oluşturulan reaktif oksijen türleri (ROT) ile savaşmak için gerekli olan antioksidan savunma sistemlerinden yoksun olabilir. AgNP'ler, hareket fonksiyonlarını durdurabilen flagellar proteinler dahil olmak üzere çeşitli hücre dışı ve hücre içi proteinlerle etkileşime girerek aşağı regülasyona neden olabilir (Saleh *et al.* 2019).

Bakterilerin kümelenme sürecini açıklamak için çeşitli fikirler öne sürülmüştür. Negatif kemotaksis (Smith 1975); kolonilerin yakınında ikincil metabolit birikimi; flagellum bozukluğu; ve daha yüksek büyüme oranı (De Boer *et al.* 1975 Jones and Park 1967).

Bazı bileşikler, kamçılı büyüme ve motiliteye müdahale ederek veya kaynaşan hücrelerin kamçılı proteinleri ile kompleks oluşturarak kamçı parçalanmasıyla sonuçlanan oğul oluşumunu engelleyebilir (Williams and Schwarzhoff 1978, Kopp *et al.* 1966).

Swarmer hücre farklılaşması, flagellar inhibisyon, anti-flagellar antikorlar veya orta viskoziteyi artıran bileşikler kullanılarak hızlandırılabilir. Ek olarak, FliL'nin gen ekspresyonunu kontrol etmek için bir sinyal ilettiği mekanizma bilinmemektedir ve kamçılı bazal gövdenin bir bölümünü kodlayan bir gen olan FliL'deki mutasyonlar, indükleyici olmayan koşullarda swarmer hücrelerinin farklılaşmasına neden olur (Belas and Suvanasuthi 2005).

2008 yılında, (Wolfe and Visick 2008) tarafından yapılan çalışmada, FliL geninin proksimal ve distal çubuk proteinleri arasındaki zayıf bağlantıyı desteklediğini göstererek, FliL'nin hareketlilik tutumundaki rolü ile hareketliliğin düzenlenmesi arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmüştür. *P. mirabilis* yüzücü hücreleri bir yüzeyle temasa geçtiklerinde, kamçı hareketliliği farklılar gösterir.

İndükleyici olmayan koşullar altında, bilinmeyen bir işleve sahip kamçılı yapısal protein oluşturan FliL genindeki mutasyonlar, yüzey algılama yolunda FliL için bir işlev önererek yanlış sürü hücrelerine yanlış farklılaşmaya neden olur. Araştırmacılar, FliL/++ hücrelerinin transkriptomunu vahşi tip oğul hücrelerininkiyle karşılaştırırken, motilite (flagellar sınıf II ve III genleri) ve kemotaksis ile ilgili pratik olarak tüm genlerin FliL/++ hücrelerinde baskılandığını buldular (Cusick *et al.* 2012).

Oğul verme, UmoB aşırı ekspresyonundan önce rscB mutant izolatlarında büyük ölçüde artış gösterir. Yabani tipte veya waaL mutant arka planında UmoB veya UmoD ile bağlantılı olarak RcsF aşırı ekspresyonunun oğul vermedeki rolü araştırıldığında, her iki

durumda da RcsF aşırı ekspresyonu UmoB aktivitesini inhibe ettiği görülmüştür (Morgenstein and Rather 2012).

Tüm bu elde edilen veriler doğrultusunda, İYE'lere ve yara enfeksiyonlarına neden olan en yaygın bakterilerden biri Proteus spp. olarak tespit edişmiştir. Ag nanopartiküllerde Proteus spp.'ye karşı antimikrobiyal aktivite görülmüştür. Aynı zamnada, Ag nanoparçacıkları FliL ve UmoD genlerinin ifadesini oransal olarak düşürmektedir. Yapılan antibiyotik direnç testlerinde Proteus türlerinin antibiyotiklere karşı dirençli olduğu ortaya çıkmıştır.

Yapılan çalışmalara ek olarak; *Proteus* virülans faktörlerinin RT polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak analizinin yapılması, Ag nanopartiküllerin *Proteus* türlerindeki diğer genler üzerindeki etkilerinin araştırılması ve Nanopartiküllerin antibakteriyel madde olarak kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Ahmadian, Y., Bakravi, A., Hashemi, H. and Namazi, H. 2019. Synthesis of polyvinyl alcohol/CuO nanocomposite hydrogel and its application as drug delivery agent. Polymer Bulletin, 76: 1967-1983.

Ahn, S., Singh, P., Jang, M., Kim, Y. J., Castro-Aceituno, V., Simu, S. Y. and Yang, D. C. 2018. Gold nanoflowers synthesized using Acanthopanacis cortex extract inhibit inflammatory mediators in LPS-induced RAW264. 7 macrophages via NF-κB and AP-1 pathways. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 162: 398-404.

Al Matar, M., Makky, E. A., Var, I. and Koksal, F. 2018. The role of nanoparticles in the inhibition of multidrug-resistant bacteria and biofilms. Current Drug Delivery, 15(4): 470-484.

Alamuri, P. and Mobley, H. L. 2008. A novel autotransporter of uropathogenic Proteus mirabilis is both a cytotoxin and an agglutinin. Molecular Microbiology, 68(4): 997-1017.

Alavi, M. and Belas, R. 2001. Surface sensing, swarmer cell differentiation, and biofilm development. Academic Press. 336: 29-40.

Al-Awady, M. J., Balakit, A. A., Al-Musawi, S., Alsultani, M. J., Kamil, A. and Alabbasi, M. 2019. Investigation of anti-MRSA and anticancer activity of Eco-friendly synthesized silver nanoparticles from Palm Dates extract. Nano Biomedicine & Engineering, 11(2).

Albukhaty, S., Al-Bayati, L., Al-Karagoly, H. and Al-Musawi, S. 2022. Preparation and characterization of titanium dioxide nanoparticles and in vitro investigation of their cytotoxicity and antibacterial activity against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Animal Biotechnology, 33(5): 864-870.

Albukhaty, S., Al-Musawi, S., Abdul Mahdi, S., Sulaiman, G. M., Alwahibi, M. S., Dewir, Y. H. and Rizwana, H. 2020. Investigation of dextran-coated superparamagnetic nanoparticles for targeted vinblastine controlled release, delivery, apoptosis induction, and gene expression in pancreatic cancer cells. Molecules, 25(20): 4721.

Algburi, A., Alazzawi, S. A., Al-Ezzy, A. I. A., Weeks, R., Chistyakov, V. and Chikindas, M. L. 2020. Potential probiotics Bacillus subtilis KATMIRA1933 and Bacillus

amyloliquefaciens B-1895 co-aggregate with clinical isolates of Proteus mirabilis and prevent biofilm formation. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 12: 1471-1483.

Al-Imam, M. J. and AL-Rubaii, B. A. L. 2016. The influence of some amino acids, vitamins and anti-inflammatory drugs on activity of chondroitinase produced by Proteus vulgaris caused urinary tract infection. Iraqi Journal of Science, 2412-2421.

Al-Isawi, Z. A. 2011. Extraction and purification of Lecithinase from Proteus vulgaris and study some it is pathogenic effects. MSc. Thesis, University of Baghdad, 98 page, Baghdad.

Al-Kaabi, W. J., Albukhaty, S., Al-Fartosy, A. J., Al-Karagoly, H. K., Al-Musawi, S., Sulaiman, G. M. and Soliman, D. A. 2021. Development of Inula graveolens (L.) plant extract electrospun/polycaprolactone nanofibers: a novel material for biomedical application. Applied Sciences, 11(2): 828.

Alkaim, A. F., Sadik, Z., Mahdi, D. K., Alshrefi, S. M., Al-Sammarraie, A. M., Alamgir, F. M. and Aljeboree, A. M. 2015. Preparation, structure and adsorption properties of synthesized multiwall carbon nanotubes for highly effective removal of maxilon blue dye. Korean Journal of Chemical Engineering, 32: 2456-2462.

Al-Kinani, M. A., Haider, A. J. and Al-Musawi, S. 2020. High uniformity distribution of Fe@ Au preparation by a micro-emulsion method. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. IOP Publishing, 987(1): 12-13.

Al-Kinani, M. A., Haider, A. J. and Al-Musawi, S. 2021. Design and Synthesis of Nanoencapsulation with a new formulation of Fe@ Au-CS-CU-FA NPs by pulsed laser ablation in liquid (PLAL) method in breast cancer therapy: In vitro and In vivo. Plasmonics, 16(4): 1107-1117.

Al-Musawi, S., Albukhaty, S., Al-Karagoly, H., Sulaiman, G. M., Alwahibi, M. S., Dewir, Y. H. and Rizwana, H. 2020. Antibacterial activity of honey/chitosan nanofibers loaded with capsaicin and gold nanoparticles for wound dressing. Molecules, 25(20): 4770.

Al-Musawi, S., Ibraheem, S., Abdul Mahdi, S., Albukhaty, S., Haider, A. J., Kadhim, A. A. and Al-Karagoly, H. 2021. Smart nanoformulation based on polymeric magnetic nanoparticles and vincristine drug: a novel therapy for apoptotic gene expression in tumors. Life, 11(1): 71.

Al-Saadi, B. Q., Kadhum, S. J. and Muhaiesen, S. H. 2015. Isolation of uropathogens from pediatric associated UTI, with special focus on the detection of. Proteus vulgaris. Iraqi Journal of Biotechnology, 14: 77-84.

Alsherees, H. A. A., Abdzaid, A. J. and Talib, R. 2016. Molecular study of Proteus mirabilis bacteria isolated from urine and wounds in hospitals Al-Najaf province. International Journal of Advanced Research in Bological Sciences, 3(6): 99-105.

Armbruster, C. E. and Mobley, H. L. 2012. Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of Proteus mirabilis. Nature Reviews Microbiology, 10(11): 743-754.

Atlas, R. M. and Snyder, J. W. 2006. Handbook of media for clinical microbiology. CRC Press, 544 page, Boca Raton.

Attmannspacher, U., Scharf, B. E. and Harshey, R. M. 2008. FliL is essential for swarming: motor rotation in absence of FliL fractures the flagellar rod in swarmer cells of Salmonella enterica. Molecular Microbiology, 68(2): 328-341.

Auwaerter, P. 2008. Antibiotic guide. Johns Hopkins ABX (antibiotic) Guide, Baltimore, MD, 493.

Bader, M. S., Loeb, M. and Brooks, A. A. 2017. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. Postgraduate Medicine, 129(2): 242-258.

Barbut, F., Monot, M., Rousseau, A., Cavelot, S., Simon, T., Burghoffer, B. and Eckert, C. 2011. Rapid diagnosis of Clostridium difficile infection by multiplex real-time PCR. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 30: 1279-1285.

Batirel, A., Regmi, S. K., Singh, P., Mert, A., Konety, B. R. and Kumar, R. 2020. Urological infections in the developing world: an increasing problem in developed countries. World Journal of Urology, 38: 2681-2691.

Bauer, A. W. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single diffusion method. American Journal of Clinical Pathology, 45: 493-496.

Belas, R. and Suvanasuthi, R. 2005. The ability of Proteus mirabilis to sense surfaces and regulate virulence gene expression involves FliL, a flagellar basal body protein. Journal of Bacteriology, 187(19): 6789-6803.

Benson, J H. 2001. Microbiological applications: Laboratory manual in general microbiology. McGraw-Hill Higher Education, 478 page, New York.

Bischoff, S., Walter, T., Gerigk, M., Ebert, M. and Vogelmann, R. 2018. Empiric antibiotic therapy in urinary tract infection in patients with risk factors for antibiotic resistance in a German emergency department. BMC Infectious Diseases, 18(1): 1-7.

Bloch, J., Lemaire, X., Legout, L., Ferriby, D., Yazdanpanah, Y. and Senneville, E. 2011. Brain abscesses during Proteus vulgaris bacteremia. Neurological Sciences, 32: 661-663.

Bontron, S., Poirel, L., Kieffer, N., Savov, E., Trifonova, A., Todorova, I. and Nordmann, P. 2019. Increased resistance to carbapenems in Proteus mirabilis mediated by amplification of the bla VIM-1-carrying and IS 26-associated class 1 Integron. Microbial Drug Resistance, 25(5): 663-667.

Bowler, P. G., Duerden, B. I. and Armstrong, D. G. 2001. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clinical Microbiology Reviews, 14(2): 244-269.

Brunati, M., Perucca, S., Han, L., Cattaneo, A., Consolato, F., Andolfo, A. and Rampoldi, L. 2015. The serine protease hepsin mediates urinary secretion and polymerisation of Zona Pellucida domain protein uromodulin. Elife, 4: e08887.

Bush, K. 2010. Alarming β-lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Current Opinion in Microbiology, 13(5): 558-564.

Buszewski, B., Railean-Plugaru, V., Pomastowski, P., Rafińska, K., Szultka-Mlynska, M., Golinska, P. and Dahm, H. 2018. Antimicrobial activity of biosilver nanoparticles produced by a novel Streptacidiphilus durhamensis strain. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 51(1): 45-54.

Calvin, M. 1998. Cutaneous wound repair. Wounds, 10: 12-32.

Cano, D. A., Martínez-Moya, M., Pucciarelli, M. G., Groisman, E. A., Casadesús, J. and García-Del Portillo, F. 2001. Salmonella enterica serovar Typhimurium response involved in attenuation of pathogen intracellular proliferation. Infection and Immunity, 69(10): 6463-6474.

Cao, B., Wang, M., Liu, L., Zhou, Z., Wen, S., Rozalski, A. and Wang, L. 2009. 16S-23S rDNA internal transcribed spacer regions in four Proteus species. Journal of Microbiological Methods, 77(1): 109-118.

Charannya, S., Duraivel, D., Padminee, K., Poorni, S., Nishanthine, C. and Srinivasan, M. R. 2018. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of silver nanoparticles and 2% chlorhexidine gluconate when used alone and in combination assessed using agar diffusion method: an in vitro study. Contemporary Clinical Dentistry, 9(2): S204.

Chen, C. Y., Chen, Y. H., Lu, P. L., Lin, W. R., Chen, T. C. and Lin, C. Y. 2012. Proteus mirabilis urinary tract infection and bacteremia: risk factors, clinical presentation, and outcomes. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 45(3): 228-236.

Chen, L., Al Laham, N., Chavda, K. D., Mediavilla, J. R., Jacobs, M. R., Bonomo, R. A. and Kreiswirth, B. N. 2015. First report of an OXA-48-producing multidrug-resistant Proteus mirabilis strain from Gaza, Palestine. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 59(7): 4305-4307.

Clemmer, K. M. and Rather, P. N. 2007. Regulation of flhDC expression in Proteus mirabilis. Research in Microbiology, 158(3): 295-302.

Collier, M. 2003. Understanding wound inflammation. Nursing Times, 99(25): 63-64.

Corrêa, J. M., Mori, M., Sanches, H. L., Cruz, A. D. D., Poiate, E. and Poiate, I. A. V. P. 2015. Silver nanoparticles in dental biomaterials. International Journal of Biomaterials, 2015(4).

Cusick, K., Lee, Y. Y., Youchak, B. and Belas, R. 2012. Perturbation of FliL interferes with Proteus mirabilis swarmer cell gene expression and differentiation. Journal of Bacteriology, 194(2): 437-447.

De Boer, W. E., Golten, C. and Scheffers, W. A. 1975. Effects of some chemical factors on flagellation and swarming of Vibrio alginolyticus. Antonie van Leeuwenhoek, 41: 385-403.

Deshmukh, S. P., Patil, S. M., Mullani, S. B. and Delekar, S. D. 2019. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. Materials Science and Engineering: C, 97: 954-965.

Desjardins, P. R. and Conklin, D. S. 2011. Microvolume quantitation of nucleic acids. Current Protocols in Molecular Biology, 3-4.

Devuyst, O., Olinger, E. and Rampoldi, L. 2017. Uromodulin: from physiology to rare and complex kidney disorders. Nature Reviews Nephrology, 13(9): 525-544.

Drzewiecka, D. 2016. Significance and roles of Proteus spp. bacteria in natural environments. Microbial Ecology, 72, 741-758.

Dufour, A., Furness, R. B. and Hughes, C. 1998. Novel genes that upregulate the Proteus mirabilis flhDC master operon controlling flagellar biogenesis and swarming. Molecular Microbiology, 29(3): 741-751.

Durgadevi, R., Abirami, G., Alexpandi, R., Nandhini, K., Kumar, P., Prakash, S. and Veera Ravi, A. 2019. Explication of the potential of 2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde in hampering uropathogenic Proteus mirabilis crystalline biofilm and virulence. Frontiers in Microbiology, 10: 2804.

Ekwealor, P. A., Ugwu, M. C., Ezeobi, I., Amalukwe, G., Ugwu, B. C., Okezie, U. and Esimone, C. 2016. Antimicrobial evaluation of bacterial isolates from urine specimen of patients with complaints of urinary tract infections in Awka, Nigeria. International Journal of Microbiology, 2016.

Endimiani, A., Luzzaro, F., Brigante, G., Perilli, M., Lombardi, G., Amicosante, G. and Toniolo, A. 2005. Proteus mirabilis bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to the expression of extended-spectrum β-lactamases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49(7): 2598-2605.

Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M. and Hultgren, S. J. 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nature Reviews Microbiology, 13(5): 269-284.

Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G. and Galdiero, M. 2015. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. Molecules, 20(5): 8856-8874.

Fraser, G. M. and Hughes, C. 1999. Swarming motility. Current Opinion in Microbiology, 2(6): 630-635.

George, D., Maheswari, P. U. and Begum, K. M. S. 2020. Chitosan-cellulose hydrogel conjugated with L-histidine and zinc oxide nanoparticles for sustained drug

delivery: Kinetics and in-vitro biological studies. Carbohydrate Polymers, 236: 116101.

Gibbs, K. A. and Greenberg, E. P. 2011. Territoriality in Proteus: advertisement and aggression. Chemical Reviews, 111(1): 188-194.

Girlich, D., Bonnin, R. A., Dortet, L. and Naas, T. 2020. Genetics of acquired antibiotic resistance genes in Proteus spp. Frontiers in Microbiology, 11: 256.

Gong, Z., Shi, X., Bai, F., He, X., Zhang, H., Li, Y. and Cao, H. 2019. Characterization of a novel diarrheagenic strain of Proteus mirabilis associated with food poisoning in China. Frontiers in Microbiology, 10: 2810.

Gué, M., Dupont, V., Dufour, A. and Sire, O. 2001. Bacterial swarming: a biochemical time-resolved FTIR− ATR study of Proteus mirabilis swarm-cell differentiation. Biochemistry, 40(39): 11938-11945.

Gunawan, C., Teoh, W. Y., Marquis, C. P. and Amal, R. 2013. Induced adaptation of Bacillus sp. to antimicrobial nanosilver. Small, 9(21): 3554-3560.

Gupta, K., Hooton, T. M., Naber, K. G., Wullt, B., Colgan, R., Miller, L. G. and Soper, D. E. 2011. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. Clinical Infectious Diseases, 52(5): e103-e120.

Habibi, M., Karam, M. R. A. and Bouzari, S. 2015. In silico design of fusion protein of FimH from uropathogenic Escherichia coli and MrpH from Proteus mirabilis against urinary tract infections. Advanced Biomedical Research, 4.

Haindongo, E. H., Funtua, B., Singu, B., Hedimbi, M., Kalemeera, F., Hamman, J. and Vuopio, J. 2022. Antimicrobial resistance among bacteria isolated from urinary tract infections in females in Namibia, 2016–2017. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 11(1): 1-8.

Halbus, A. F., Horozov, T. S. and Paunov, V. N. 2017. Colloid particle formulations for antimicrobial applications. Advances in Colloid and Interface Science, 249: 134-148.

Hamilton, A. L., Kamm, M. A., Ng, S. C. and Morrison, M. 2018. Proteus spp. as putative gastrointestinal pathogens. Clinical Microbiology Reviews, 31(3): e00085-17.

Hasan, T. H. and Al-Harmoosh, R. A. 2020. Mechanisms of antibiotics resistance in bacteria. Systematic Reviews in Pharmacy, 11(6): 817-823.

Hendry, A. T. and Stewart, I. O. 1979. Silver-resistant Enterobacteriaceae from hospital patients. Canadian Journal of Microbiology, 25(8): 915-921.

Hickling, D. R., Sun, T. T. and Wu, X. R. 2017. Anatomy and physiology of the urinary tract: relation to host defense and microbial infection. Urinary tract infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management, 1-25.

Hindi, K. M., Ditto, A. J., Panzner, M. J., Medvetz, D. A., Han, D. S., Hovis, C. E. and Youngs, W. J. 2009. The antimicrobial efficacy of sustained release silver–carbene complex-loaded L-tyrosine polyphosphate nanoparticles: Characterization, in vitro and in vivo studies. Biomaterials, 30(22): 3771-3779.

Huh, A. J. and Kwon, Y. J. 2011. "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. Journal of Controlled Release, 156(2): 128-145.

Humphries, R. M., Kircher, S., Ferrell, A., Krause, K. M., Malherbe, R., Hsiung, A. and Burnham, C. A. D. 2018. The continued value of disk diffusion for assessing antimicrobial susceptibility in clinical laboratories: report from the clinical and laboratory standards institute methods development and standardization working group. Journal of Clinical Microbiology, 56(8): e00437-18.

Ihanni, L. O., Oa, O. and Deji-Agbook, M. 2003. Prevalence of bacteria pathogen in infected wounds in a tertiary hospital. Journal of the National Medical Association, 95(12): 1189-1195.

Illanchezian, S., Jayaraman, S., Manoharan, M. S. and Valsalam, S. 2010. Virulence and cytotoxicity of seafood borne Aeromonas hydrophila. Brazilian Journal of Microbiology, 41: 978-983.

Islam, S., Aldstadt, J. and Aga, D. 2019. Global antimicrobial resistance: a complex and dire threat with few definite answers. Tropical Medicine & International Health, 24(6): 658-662.

Jacobsen, S. M., Stickler, D. J., Mobley, H. L. and Shirtliff, M. E. 2008. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to Escherichia coli and Proteus mirabilis. Clinical Microbiology Reviews, 21(1): 26-59.

Jain, S., Gaind, R., Kothari, C., Sehgal, R., Shamweel, A., Thukral, S. S. and Chellani, H. K. 2016. VEB-1 extended-spectrum β-lactamase-producing multidrug-resistant Proteus mirabilis sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit in India: clinical and diagnostic implications. JMM Case Reports, 3(4).

Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A. and Danquah, M. K. 2018. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. Beilstein Journal of Nanotechnology, 9(1): 1050-1074.

Jones, H. E. and Park, R. W. A. 1967. The influence of medium composition on the growth and swarming of Proteus. Microbiology, 47(3): 369-378.

Jorgenson, M. A., Kannan, S., Laubacher, M. E. and Young, K. D. 2016. Dead-end intermediates in the enterobacterial common antigen pathway induce morphological defects in Escherichia coli by competing for undecaprenyl phosphate. Molecular Microbiology, 100(1): 1-14.

Kadhum, B. A. 2010. Isolation & pathogenic study on Proteus mirabilis. Baghdad Science Journal, 7: 386-389.

Kalra, A., Cooley, C. and Tsigrelis, C. 2011. Treatment of endocarditis due to Proteus species: a literature review. International Journal of Infectious Diseases, 15(4): e222-e225.

Kanayama, A., Kobayashi, I. and Shibuya, K. 2015. Distribution and antimicrobial susceptibility profile of extended-spectrum β-lactamase-producing Proteus mirabilis strains recently isolated in Japan. International Journal of Antimicrobial Agents, 45(2): 113-118.

Karam, M. R. A., Habibi, M. and Bouzari, S. 2019. Urinary tract infection: Pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines against Uropathogenic Escherichia coli. Molecular Immunology, 108: 56-67.

Kargozar, S. and Mozafari, M. 2018. Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. Materials Today: Proceedings, 5(7): 15492-15500.

Kehinde, A. O. 2004. Pattern of bacterial pathogens in Burn wound infection in Ibadan, Nigeria. Annals of Burns and Fire Disasters, (1): 12-15.

Khan, I., Saeed, K. and Khan, I. 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. Arabian Journal of Chemistry, 12(7): 908-931.

Koeijers, J. J., Verbon, A., Kessels, A. G. H., Bartelds, A., Donkers, G., Nys, S. and Stobberingh, E. E. 2010. Urinary tract infection in male general practice patients: uropathogens and antibiotic susceptibility. Urology, 76(2): 336-340.

Kopp, R., Müller, J. and Lemme, R. 1966. Inhibition of swarming of Proteus by sodium tetradecyl sulfate, β-phenethyl alcohol, and p-nitrophenylglycerine. Applied Microbiology, 14(6): 873-878.

Kotian, H. S., Abdulla, A. Z., Hithysini, K. N., Harkar, S., Joge, S., Mishra, A. and Varma, M. M. 2020. Active modulation of surfactant-driven flow instabilities by swarming bacteria. Physical Review E, 101(1): 012407.

Kranz, J., Schmidt, S., Lebert, C., Schneidewind, L., Mandraka, F., Kunze, M. and Wagenlehner, F. M. 2018. The 2017 update of the German clinical guideline on epidemiology, diagnostics, therapy, prevention, and management of uncomplicated urinary tract infections in adult patients. Part II: therapy and prevention. Urologia Internationalis, 100(3): 271-278.

Kuan, L., Schaffer, J. N., Zouzias, C. D. and Pearson, M. M. 2014. Characterization of 17 chaperone-usher fimbriae encoded by Proteus mirabilis reveals strong conservation. Journal of Medical Microbiology, 63(7): 911.

Kumar, S. S. D., Rajendran, N. K., Houreld, N. N. and Abrahamse, H. 2018. Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications. International Journal of Biological Macromolecules, 115: 165-175.

Liaw, S. J., Lai, H. C. and Wang, W. B. 2004. Modulation of swarming and virulence by fatty acids through the RsbA protein in Proteus mirabilis. Infection and Immunity, 72(12): 6836-6845.

Liaw, S. J., Lai, H. C. and Wang, W. B. 2005. Modulation of Swarming and Virulence by Fatty Acids through the RsbA Protein in Proteus mirabilis. Infection and Immunity, 73(4): 2568.

Liaw, S. J., Lai, H. C., Ho, S. W., Luh, K. T. and Wang, W. B. 2001. Characterisation of p-nitrophenylglycerol-resistant Proteus mirabilis super-swarming mutants. Journal of Medical Microbiology, 50(12): 1039-1048.

Liaw, S. J., Lai, H. C., Ho, S. W., Luh, K. T. and Wang, W. B. 2003. Role of RsmA in the regulation of swarming motility and virulence factor expression in Proteus mirabilis. Journal of Medical Microbiology, 52(1): 19-28.

Lichtenberger, P. and Hooton, T. M. 2008. Complicated urinary tract infections. Current Infectious Disease Reports, 10(6): 499-504.

Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2−ΔΔCT method. Methods, 25(4): 402-408.

Livermore, D. M., Carter, M. W., Bagel, S., Wiedemann, B., Baquero, F., Loza, E. and Shungu, D. L. 2001. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against recent clinical bacteria collected in Europe and Australia. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45(6): 1860-1867.

Lullove, E. J. and Brent Bernstein, D. 2015. Use of SilvrSTAT® in lower extremity wounds: a two center case series. Journal of Diabetic Complications, 7: 13-16.

MacFaddin, J F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Lippinocott Williams &Wilkins, 912 page, Philadelphia.

Macnab, R. M. 1996. Flagella and motility Escherichia coli and Salmonella. Cellular and Molecular Biology, 123, 145.

Mahdi, B., Khudhur, H. B. and Abdul-Hussein, M. M. 2020. Bacterial isolates of urine and their susceptibility to antimicrobials. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences, 8(A): 84-88.

Marambio-Jones, C. and Hoek, E. M. 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. Journal of Nanoparticle Research, 12, 1531-1551.

Marinescu, L., Ficai, D., Oprea, O., Marin, A., Ficai, A., Andronescu, E. and Holban, A. M. 2020. Optimized synthesis approaches of metal nanoparticles with antimicrobial applications. Journal of Nanomaterials, 2020: 1-14.

Mathur, P., Jha, S., Ramteke, S. and Jain, N. K. 2018. Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 46(1): 115-126.

Mattar, C., Edwards, S., Baraldi, E. and Hood, J. 2020. An overview of the global antimicrobial resistance research and development hub and the current landscape. Current Opinion in Microbiology, 57: 56-61.

McArthur, A. G. and Wright, G. D. 2015. Bioinformatics of antimicrobial resistance in the age of molecular epidemiology. Current Opinion in Microbiology, 27: 45-50.

Mengucci, F., Dardis, C., Mongiardini, E. J., Althabegoiti, M. J., Partridge, J. D., Kojima, S. and Lodeiro, A. R. 2020. Characterization of FliL proteins in Bradyrhizobium diazoefficiens: lateral FliL supports swimming motility, and subpolar FliL modulates the lateral flagellar system. Journal of bacteriology, 202(5): e00708-19.

Micali, S., Isgro, G., Bianchi, G., Miceli, N., Calapai, G. and Navarra, M. 2014. Cranberry and recurrent cystitis: more than marketing?. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 54(8): 1063-1075.

Mo, L., Huang, H. Y., Zhu, X. H., Shapiro, E., Hasty, D. L. and Wu, X. R. 2004. Tamm-Horsfall protein is a critical renal defense factor protecting against calcium oxalate crystal formation. Kidney International, 66(3): 1159-1166.

Mohanpuria, P., Rana, N. K. and Yadav, S. K. 2008. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. Journal of Nanoparticle Research, 10: 507-517.

Mordi, R. M. and Momoh, A. I. 2009. Incidence of Proteus species in wound infections and their sensitivity pattern in the University of Benin Teaching Hospital. African Journal of Biotechnology, 8(5).

Morgenstein, R. M. and Rather, P. N. 2012. Role of the Umo proteins and the Rcs phosphorelay in the swarming motility of the wild type and an O-antigen (waaL) mutant of Proteus mirabilis. Journal of Bacteriology, 194(3): 669-676.

Mukherjee, 4., Roy, M., Mandal, B. P., Dey, G. K., Mukherjee, P. K., Ghatak, J. and Kale, S. P. 2008. Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus T. asperellum. Nanotechnology, 19(7): 075103.

Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C. and Yolken, R. 2003. American Society for Microbiology. Manual of Clinical Microbiology, 6.

Nucleo, E., Fugazza, G., Migliavacca, R., Spalla, M., Comelli, M., Pagani, L. and Debiaggi, M. 2010. Differences in biofilm formation and aggregative adherence between β-lactam susceptible and β-lactamases producing P. mirabilis clinical isolates. The New Microbiologica, 33(1): 37.

Ny, S., Edquist, P., Dumpis, U., Gröndahl-Yli-Hannuksela, K., Hermes, J., Kling, A. M. and Group, N. U. 2019. Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolates from outpatient urinary tract infections in women in six European countries including Russia. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 17: 25-34.

Oguachuba, H. N. 1985. Hospital infections in orthopaedic Traumatological department of the Jos Teaching Hospital. Nigerian Medical Journal, 9: 99-101.

Okesola, A. O. and Kehinde, A. O. 2008. Bacteriology of non-surgical wound infections in Ibadan, Nigeria. African Journal of Medicine and Medical Sciences, 37(3): 261-264.

Okimoto, N., Hayashi, T., Ishiga, M., Nanba, F., Kishimoto, M., Yagi, S. and Tamada, S. 2010. Clinical features of Proteus mirabilis pneumonia. Journal of Infection and Chemotherapy, 16(5): 364-366.

Oni, A. A., Bakare, R. A., Okesola, A. O., Ogunlowo, H. A. and Ewete, A. F. 1997. Pattern of bacterial pathogens in surgical wound infections. African Journal of Medicine and Medical Sciences, 26(3): 139-140.

Pal, S., Tak, Y. K. and Song, J. M. 2007. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. Applied and Environmental Microbiology, 73(6): 1712-1720.

Parikh, R. Y., Singh, S., Prasad, B. L. V., Patole, M. S., Sastry, M. and Shouche, Y. S. 2008. Extracellular synthesis of crystalline silver nanoparticles and molecular evidence of silver resistance from Morganella sp.: towards understanding biochemical synthesis mechanism. ChemBioChem, 9(9): 1415-1422.

Patel, J. B. 2001. 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. Molecular Diagnosis, 6: 313-321.

Pattanayak, S., Kumar, P. R., Sahoo, M. K., Paul, A. and Sahoo, P. K. 2018. First field-based evidence of association of Proteus mirabilis causing large scale mortality in Indian major carp farming. Aquaculture, 495: 435-442.

Pavasupree, S., Jitputti, J., Ngamsinlapasathian, S. and Yoshikawa, S. 2008. Hydrothermal synthesis, characterization, photocatalytic activity and dye-sensitized solar cell performance of mesoporous anatase TiO2 nanopowders. Materials Research Bulletin, 43(1): 149-157.

Pearson, M. M., Rasko, D. A., Smith, S. N. and Mobley, H. L. 2010. Transcriptome of swarming Proteus mirabilis. Infection and Immunity, 78(6): 2834-2845.

Pecina, A., Schwan, M., Blagotinsek, V., Rick, T., Klüber, P., Leonhard, T. and Thormann, K. M. 2021. The stand-alone PilZ-domain protein MotL specifically regulates the activity of the secondary lateral flagellar system in Shewanella putrefaciens. Frontiers in Microbiology, 12: 668892.

Pitout, J. D., Nordmann, P., Laupland, K. B. and Poirel, L. 2005. Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) in the community. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 56(1): 52-59.

Raffi, H. S., Bates Jr, J. M., Laszik, Z. and Kumar, S. 2009. Tamm-horsfall protein protects against urinary tract infection by proteus mirabilis. The Journal of Urology, 181(5): 2332-2338.

Raheem, H. Q., Al-Thahab, A. A. and Abd, F. G. 2016. Different methods for detection sliver nanoparticles produced by proteus mirabilis bacteria. International Journal of PharmTech Research, 9(4): 368-376.

Rai, M., Yadav, A. and Gade, A. 2009. Current trends in phytosynthesis of metal nanoparticles. Critical Reviews in Biotechnology, 29(1): 78-79.

Ramanathan, R., O'Mullane, A. P., Parikh, R. Y., Smooker, P. M., Bhargava, S. K. and Bansal, V. 2011. Bacterial kinetics-controlled shape-directed biosynthesis of silver nanoplates using Morganella psychrotolerans. Langmuir, 27(2): 714-719.

Ramkumar, G. and Logashanmugam, E. 2018. Study on impulsive assessment of chronic pain correlated expressions in facial images. Biomedical Research, 29(16).

Rao, P., Chennu, M. M., Vennila, T., Kosanam, S., Ponsudha, P., Suriyakrishnaan, K. and Selvam, N. 2022. Assessment of bacterial isolates from the urine specimens of urinary tract infected patient. BioMed Research International, 2022.

Rauprich, O., Matsushita, M., Weijer, C. J., Siegert, F., Esipov, S. E. and Shapiro, J. A. 1996. Periodic phenomena in Proteus mirabilis swarm colony development. Journal of Bacteriology, 178(22): 6525-6538.

Rodríguez, L. E. C., Rigau, L. D., Oliva, S. D., Miraya, A. C. and García, G. O. 2019. Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae multiresistance from patients with urinary tract infection acquired in the community. Revista Cubana de Medicina General Integral, 35(1): 26-40.

Sader, H. S., Flamm, R. K. and Jones, R. N. 2014. Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteremia isolates in patients with urinary tract infection: results from United States and European hospitals (2009–2011). Journal of Chemotherapy, 26(3): 133-138.

Saeb, A., Al-Rubeaan, K. A., Abouelhoda, M., Selvaraju, M. and Tayeb, H. T. 2017. Genome sequencing and analysis of the first spontaneous Nanosilver resistant bacterium Proteus mirabilis strain SCDR1. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 6(1): 1-27.

Saeb, A., Alshammari, A. S., Al-Brahim, H. and Al-Rubeaan, K. A. 2014. Production of silver nanoparticles with strong and stable antimicrobial activity against highly pathogenic and multidrug resistant bacteria. The Scientific World Journal, 2014.

Saleh, T. H., Hashim, S. T., Malik, S. N. and AL-Rubaii, B. A. L. 2019. Down-regulation of FliL gene expression by Ag nanoparticles and TiO2 nanoparticles in pragmatic clinical isolates of Proteus mirabilis and Proteus vulgaris from urinary tract infection. Nano Biomedicine and Engineering, 11(4): 321-332.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2344 page, New York.

Samsuddin, R. D., Sulong, A., Hussin, N. S. C. and Ismail, Z. 2018. Prevalence of Proteus species with reduced susceptibility to imipenem isolated from a tertiary referral hospital in Malaysia. Malaysian Journal o Microbiology, 14(6): 513-518.

Scavone, P., Villar, S., Umpiérrez, A. and Zunino, P. 2015. Role of Proteus mirabilis MR/P fimbriae and flagella in adhesion, cytotoxicity and genotoxicity induction in T24 and Vero cells. Pathogens and Disease, 73(4): ftv017.

Schaeffer, C., Devuyst, O. and Rampoldi, L. 2021. Uromodulin: roles in health and disease. Annual Review of Physiology, 83: 477-501.

Schaeffer, C., Merella, S., Pasqualetto, E., Lazarevic, D. and Rampoldi, L. 2017. Mutant uromodulin expression leads to altered homeostasis of the endoplasmic reticulum and activates the unfolded protein response. PLoS One, 12(4): e0175970.

Schaffer, J. N. and Pearson, M. M. 2017. Proteus mirabilis and urinary tract infections. Urinary tract infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management, 383-433.

Shaligram, N. S., Bule, M., Bhambure, R., Singhal, R. S., Singh, S. K., Szakacs, G. and Pandey, A. 2009. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract from the compactin producing fungal strain. Process Biochemistry, 44(8): 939-943.

Sharma, V. K., Yngard, R. A. and Lin, Y. 2009. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. Advances in Colloid and Interface Science, 145(2): 83-96.

Shehab, Z. H. and Al-Rubaii, B. A. L. 2019. Effect of D-mannose on gene expression of neuraminidase produced from different clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Baghdad Science Journal, 16(2): 291-298.

Shi, X., Lin, Y., Qiu, Y., Li, Y., Jiang, M., Chen, Q. and Huang, S. 2016. Comparative screening of digestion tract toxic genes in Proteus mirabilis. PloS One, 11(3): e0151873.

Shin, W. K., Cho, J., Kannan, A. G., Lee, Y. S. and Kim, D. W. 2016. Cross-linked composite gel polymer electrolyte using mesoporous methacrylate-functionalized SiO2 nanoparticles for lithium-ion polymer batteries. Scientific Reports, 6(1): 26332.

Shoket, H., Ali, S., Gupta, R. K. and Mishra, V. K. 2014. Occurrence of Proteus mirabilis associated with vegetable samples in Dehradun, Uttarakhand, India. nternational Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(7): 958-961.

Singh, R., Nadhe, S., Wadhwani, S., Shedbalkar, U. and Chopade, B. A. 2016. Nanoparticles for control of biofilms of Acinetobacter species. Materials, 9(5): 383.

Smith, D. G. 1975. Inhibition of swarming in Proteus spp. by tannic acid. Journal of Applied Bacteriology, 38(1): 29-32.

Sobe, R. C., Gilbert, C., Vo, L., Alexandre, G. and Scharf, B. E. 2022. FliL and its paralog MotF have distinct roles in the stator activity of the Sinorhizobium meliloti flagellar motor. Molecular Microbiology, 118(3): 223-243.

Song, W., Kim, J., Bae, I. K., Jeong, S. H., Seo, Y. H., Shin, J. H. and Lee, K. 2011. Chromosome-encoded AmpC and CTX-M extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of Proteus mirabilis from Korea. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 55(4): 1414-1419.

Sosa, V., Schlapp, G. and Zunino, P. 2006. Proteus mirabilis isolates of different origins do not show correlation with virulence attributes and can colonize the urinary tract of mice. Microbiology, 152(7): 2149-2157.

Steward, F. S. and Beswick, T. S. L. 1977. Bactertiology, virology and immunity for students of medicine. ELBS and Balliere Tindall London, 235-237.

Tachiyama, S., Chan, K. L., Liu, X., Hathroubi, S., Li, W., Peterson, B. and Roujeinikova, A. 2022. The flagellar motor protein FliL forms a scaffold of circumferentially positioned rings required for stator activation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 119(4): e2118401119.

Tang, Y. W., Stratton, C. W., Podzorski, R. P., Loeffelholz, M. and Hayden, R. T. 2006. Detection and characterization of molecular amplification products: agarose gel electrophoresis, southern blot hybridization, restriction enzyme digest analysis, and enzyme-linked immunoassay. Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology, 243-263.

Thakkar, K. N., Mhatre, S. S. and Parikh, R. Y. 2010. Biological synthesis of metallic nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 6(2): 257-262.

Toner, L., Papa, N., Aliyu, S. H., Dev, H., Lawrentschuk, N. and Al-Hayek, S. 2016. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospital urinary tract infections: incidence and antibiotic susceptibility profile over 9 years. World Journal of Urology, 34: 1031-1037.

Torpy, J. M., Alison, B. and Richard, M. G. 2005. Surgical wound infections. Journal of American Medical Association, 294(2): 21-22.

Trudu, M., Janas, S., Lanzani, C., Debaix, H., Schaeffer, C., Ikehata, M. and Rampoldi, L. 2013. Common noncoding UMOD gene variants induce salt-sensitive hypertension and kidney damage by increasing uromodulin expression. Nature Medicine, 19(12): 1655-1660.

Tumturk, A., Tonyali, S., Tekce, A. Y. T., Isikay, L. and Cime, H. 2019. Fosfomycin in the treatment of extended spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae-related urinary tract infections. The Journal of Infection in Developing Countries, 13(01): 73-76.

Velázquez-Velázquez, J. L., Santos-Flores, A., Araujo-Meléndez, J., Sánchez-Sánchez, R., Velasquillo, C., González, C. and Martinez-Gutierrez, F. 2015. Anti-biofilm and cytotoxicity activity of impregnated dressings with silver nanoparticles. Materials Science and Engineering: C, 49: 604-611.

Wang, W. B., Chen, I. C., Jiang, S. S., Chen, H. R., Hsu, C. Y., Hsueh, P. R. and Liaw, S. J. 2008. Role of RppA in the regulation of polymyxin b susceptibility, swarming, and virulence factor expression in Proteus mirabilis. Infection and Immunity, 76(5): 2051-2062.

Wayne, P. A. 2010. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. CLSI Document, M100-S20.

Williams, F. D. and Schwarzhoff, R. H. 1978. Nature of the swarming phenomenon in Proteus. Annual Reviews in Microbiology, 32(1): 101-138.

Wise, R., Andrews, J., King, A., Brown, D., Felmingham, D., MacGowan, A. and Wheat, P. 2002. BSAC Disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 48: 6.

Wist, J., Sanabria, J., Dierolf, C., Torres, W. and Pulgarin, C. 2002. Evaluation of photocatalytic disinfection of crude water for drinking-water production. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 147(3): 241-246.

Wolfe, A. J. and Visick, K. L. 2008. Get the message out: cyclic-Di-GMP regulates multiple levels of flagellum-based motility. Journal of Bacteriology, 190(2): 463-475.

Yatsunenko, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M. and Gordon, J. I. 2012. Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature, 486(7402): 222-227.

Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q. and Chu, C. H. 2020. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. International Journal of Nanomedicine, 2555-2562.

Yuan, F., Huang, Z., Yang, T., Wang, G., Li, P., Yang, B. and Li, J. 2021. Pathogenesis of Proteus mirabilis in catheter-associated urinary tract infections. Urologia Internationalis, 105(6): 354-361.

Zafar, U., Taj, M. K., Nawaz, I., Zafar, A. and Taj, I. 2019. Characterization of Proteus mirabilis isolated from patient wounds at Bolan Medical Complex Hospital, Quetta. Jundishapur Journal of Microbiology, 12(7).

Zaidi, S., Misba, L. and Khan, A. U. 2017. Nano-therapeutics: a revolution in infection control in post antibiotic era. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 13(7): 2281-2301.

Zalewska-Piątek, B. M. and Piątek, R. J. 2019. Alternative treatment approaches of urinary tract infections caused by uropathogenic Escherichia coli strains-Review. Acta Biochimica Polonica, 66(2): 129-138.

Zanichelli, V., Huttner, A., Harbarth, S., Kronenberg, A. O. and Huttner, B. 2019. Antimicrobial resistance trends in Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae and Proteus mirabilis urinary isolates from Switzerland: retrospective analysis of data from a national surveillance network over an 8-year period (2009-2016). Swiss Medical Weekly, 149: w20110.

Zisman, A. L. 2017. Effectiveness of treatment modalities on kidney stone recurrence. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 12(10): 1699-1708.

Zubair, K. U., Shah, A. H., Fawwad, A., Sabir, R. and Butt, A. 2019. Frequency of urinary tract infection and antibiotic sensitivity of uropathogens in patients with diabetes. Pakistan Journal of Medical Sciences, 35(6): 1664.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Husain Awad Bneed BNEED

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2015-2019