**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

# GÜNEY IRAK'TA GEBE KADINLARDA İDRAR YOLU ENFEKSİYONUNA NEDEN OLAN BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN MOLEKÜLER TEKNİKLER İLE TANIMLANMASI

**Muqdad Jabbar Ali AL-RIKABI**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇANKIRI**
**2022**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Muqdad Jabbar Ali AL-RIKABI tarafından hazırlanan **"Güney Irak'ta Gebe Kadınlarda İdrar Yolu Enfeksiyonuna Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu ve Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Teknikler ile Tanımlanması"** adlı tez çalışması 21/12/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Şinasi AŞKAR

**Eş Danışman** : Dr. Öğr. Üyesi Wisam Jasim Abed ALI

**Jüri Üyeleri** :

**Başkan** : Doç. Dr. Şinasi AŞKAR
Biyoloji
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Üye** : Prof. Dr. Esra ŞEKER
Mikrobiyoloji
Afyon Kocatepe Üniversitesi

**Üye** : Doç. Dr. Mehmet SEZGİN
Biyoloji
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 "**Güney Irak'ta Gebe Kadınlarda İdrar Yolu Enfeksiyonuna Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu ve Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Teknikler ile Tanımlanması**" 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

(21/12/2022).

**Muqdad Jabbar Ali AL-RIKABI**

# ÖZET


Yüksek Lisans Tezi

GÜNEY IRAK'TA GEBE KADINLARDA İDRAR YOLU ENFEKSİYONUNA NEDEN OLAN BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN MOLEKÜLER TEKNİKLER İLE TANIMLANMASI

Muqdad Jabbar Ali AL-RIKABI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Şinasi AŞKAR
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Wisam Jasim Abed ALI

Bu tezde, gebe kadınlarda İYE'lerin nedensel ajanlarını kültür, vitek 2 ve multipleks PZR ile tanımlamak, izolatların antibiyotik direnç/duyarlılık durumunu belirlemek, bazı direnç genlerinin varlığını araştırmak, *mecA* ve *CTX-M* genlerinin dizi ve filogenetik analizlerini yapmak amaçlanmıştır. Bu amaçla, Eylül 2021- Şubat 2022 tarihleri arasında Güney Irak bulunan Dhi Qar şehrindeki özel laboratuvarlar ve Al-Rifai Hastane'sinde idrar yolu enfeksiyonuna (İYE) sahip olan 18 ile 47 yaşları arasında 320 adet gebe kadından idrar örneği alınmıştır. Alınan 320 idrar numunesinden 50 (%15,6)'sinde bakteri üremesi pozitif iken 270 (%84,4) örnekte bakteri üremesi görülmemiştir. Alınan örneklerden bakterileri tanımlamak için geleneksel morfolojik, biyokimyasal testler ve VITEK2 sistemi kullanılmıştır. İYE'ye neden olan bakteriyel patojenlerin sıklığı; *Escherichia coli* 18 (%36), *Staphylococcus aureus* 12 (%24), *Klebsiella pneumoniae* 9 (%18), *Proteus mirabilis* 6 (%12) ve *Pseudomonas aeruginosa* 5 (%10) olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada yer alan bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları; benzil penisilin ve oksasilin (%100), eritromisin (%88,8), sulfametoksazol (%80,55), levofloksasin (%72,22), fusdik asit (%65,55), gentamisin (%66,7) ve amoksisilin (%63,2) olarak belirlenmiştir. *TEM, SHV, AMpC mecA ve CTX-M* direnç genlerinin tespiti PZR tekniği kullanılarak yapılmıştır. Bakteri izolatlarinda -*TEM* -28 (%73,6), *SHV* 1 (%2,6), *CTX-M*- 26 (%68,4), *AmpC*- 9 (%23,6) ve *mec*A geni-12 (%100) olarak bulunmuştur. Bu çalışma, gebelerde idrar yolu enfeksiyonunu (İYE) değerlendirmek ve GSBL gibi dirençli bakterileri saptamak için idrar kültürü ve duyarlılık testine ihtiyaç olduğunu ve bu hastaların bu hastalığın tedavisinde güvenli ve etkili tedavi almalarının önemli olduğunu göstermektedir.



**2022, 80 sayfa**

**ANAHTAR KELİMELER:** Antibiyotik, Bakteri, Direnç geni, Filogenetik, Vitek

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA CAUSING URINARY TRACT INFECTION IN PREGNANT WOMEN AND THE IDENTIFICATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES BY MOLECULAR TECHNIQUE IN SOUTHERN IRAQ

Muqdad Jabbar Ali AL-RIKABI

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

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Şinasi AŞKAR
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Wisam Jasim Abed ALI

In this thesis, it was aimed to identify the causative agents of UTIs in pregnant women with vitek 2 and multiplex PCR, to determine the antibiotic resistance status of isolates, to investigate the presence of some resistance genes, and to perform sequence analyzes of *mecA* and *CTX-M* genes. For this purpose, urine samples were taken from 320 pregnant women with urinary tract infection (UTI) in private laboratories and Al-Rifai Hospital in Dhi Qar, Southern Iraq, between September 2021 and February 2022. The ages of the patients ranged from 18 to 47. While bacterial growth was positive in 50 (15.6%) of 320 urine samples, no bacterial growth was observed in 270 (84.4%) samples. Traditional morphological and biochemical tests and the VITEK2 system were used to identify bacteria from the samples. The frequency of bacterial pathogens causing UTI; *Escherichia coli* 18 (36%), *Staphylococcus aureus* 12 (24%), *Klebsiella pneumoniae* 9 (18%), *Proteus mirabilis* 6 (12%) and *Pseudomonas aeruginosa* 5 (10%) were detected. Antibiotic susceptibility of bacterial isolates included in this study; benzyl penicillin and oxacillin (100%), erythromycin (88.8%), sulfamethoxazole (80.55%), levofloxacin (72.22%), fusdic acid (65.55%), gentamicin (66.7%) and amoxicillin (63.2%) was determined. Detection of *TEM, SHV, AMpC mecA* and *CTX-M* resistance genes was done using PCR technique. Bacterial isolates -*TEM* -28 (73.6%), *SHV* 1 (2.6%), *CTX-M*- 26 (68.4%), *AmpC*-9 (23.6%) and *mecA* gene-12 (%) 100) was found. This study shows that urine culture and susceptibility testing is needed to evaluate urinary tract infection (UTI) among pregnant women and to detect resistant bacteria such as ESBL, and it is important for these patients to receive safe and effective treatment in the treatment of this disease.



**2022, 80 pages**

**Keywords:** Antibiotic, Bacteria, Phylogenetic, Resistance gene, Vitec

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Hayatımdaki tüm zorluklara benimle göğüs geren, hayatımın her aşamasında bana destek olan, yakın ilgi ve önerileriyle her aşamada bana rehberlik eden en değerlilerim canım aileme teşekkür ederim. Çalışmalarımda her türlü yardımdan kaçınmayan, beni her zaman destekleyen, büyük bir anlayış gösteren ve bana yol gösteren değerli hocalarım Doç. Dr. Şinasi AŞKAR ve Dr. Öğr. Üyesi Wisam Jasim Abed ALI 'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Muqdad Jabbar Ali AL-RIKABI**

**Çankırı, Aralık 2022**

# İÇİNDEKİLER

**ÖZET** ..... **i**
**ABSTRACT** ..... **ii**
**ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR** ..... **iii**
**İÇİNDEKİLER** ..... **iv**
**SİMGELER DİZİNİ** ..... **vii**
**KISALTMALAR DİZİNİ** ..... **viii**
**ŞEKİLLER DİZİNİ** ..... **ix**
**ÇİZELGELER DİZİNİ** ..... **x**
**1. GİRİŞ** ..... **1**
**2. LİTERATÜR ÖZETİ** ..... **3**
**2.1 İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE)** ..... **3**
**2.1.1 İdrar yolu enfeksiyonu bulaşma yolları** ..... **5**
**2.2 Hamile Kadınlarda İYE'ye Neden Olan En Yaygın Bakteriler** ..... **7**
**2.2.1 İYE'ye neden olan gram negatif bakteriler** ..... **7**
**2.2.2 İYE'ye neden olan gram pozitif bakteriler** ..... **13**
**2.3 Bakterileri Tanımlamak İçin Kullanılan Teknikler** ..... **15**
**2.3.1 Mikroskopi** ..... **15**
**2.3.2 Gram boyama** ..... **15**
**2.3.3 Mikrobiyal kültür** ..... **16**
**2.3.4 VITEK2 kompakt sistemi** ..... **16**
**2.3.5 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)** ..... **17**
**2.4 Anti Mikrobiyal Direnç (AMD)** ..... **17**
**3. MATERYAL VE METOT** ..... **21**
**3.1 Materyal** ..... **21**
**3.1.1 Cihaz ve ekipman** ..... **21**
**3.1.2 Kimyasal maddeler** ..... **21**
**3.1.3 Kültür ortamları** ..... **22**
**3.1.4 Ticari Kitler** ..... **23**
**3.2 Yöntem** ..... **23**
**3.2.1 Örneklerin Toplanması** ..... **23**

**3.2.2 Makroskopik ve mikroskobik inceleme ..... 23**
**3.2.3 Gram boyama ..... 24**
**3.3 Besiyerlerinin Hazırlanması ..... 24**
**3.3.1 Kanlı agar ..... 24**
**3.3.2 MacConkey agar ..... 24**
**3.3.3 Müller hinton agarı ..... 25**
**3.3.4 Beyin kalp infüzyon suyu ..... 25**
**3.3.5 Mannitol tuzlu agar (MSA) ..... 25**
**3.4 Biyokimyasal Testler ..... 25**
**3.4.1 İndol üretim testi ..... 25**
**3.4.2 Metil kırmızı testi ..... 25**
**3.4.3 Voges-proskauer testi ..... 26**
**3.4.4 Katalaz testi ..... 26**
**3.4.5 Oksidaz testi ..... 27**
**3.5 Bakteriyel İzolatların Saklanması ..... 27**
**3.6 VITEK®2 Kompakt Sistemi ile Bakteri Tanımlama ..... 27**
**3.7 VITEK-2 Sistemi ile Antibiyotik Duyarlılık Testi ..... 28**
**3.8 Moleküler Çalışma ..... 29**
**3.8.1 Kimyasallar ve primerler ..... 29**
**3.8.2 Bakteriyel DNA ekstraksiyonu ..... 30**
**3.8.3 DNA miktarının belirlenmesi ..... 32**
**3.8.4 PZR ana karışım hazırlığı ..... 32**
**3.8.5 PZR termal döngü cihaz koşulları ..... 33**
**3.8.6 PZR ürün analizi ..... 34**
**3.9 *mecA* ve *blaCTX-M* Direnç Genlerinin Sekans ve Filogenetik Analizi ..... 34**
**4. BULGULAR VE TARTIŞMA ..... 36**
**4.1 Bakteri İzolasyonu ..... 36**
**4.2 Bakterilerin identifikasyonu ..... 37**
**4.3 Hamilelik Evreleri ..... 42**
**4.4 Yaş ..... 44**
**4.5 Gram Pozitif Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnci ..... 45**
**4.6 Gram Negatif Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnci ..... 47**

**4.7 Gram Negatif Bakterilerde PZR Tekniği ile GSBL Genlerinin Tespiti ..... 50**
**4.8 Gram Pozitif Bakterilerde mecA Geni Tespiti ..... 52**
**4.9 *mecA* ve *CTX-M* Direnç Genlerinin Sekans ve Filogenetik Analizi ..... 53**
**5. SONUÇ VE ÖNERİLER ..... 66**
**KAYNAKLAR ..... 67**
**ÖZGEÇMİŞ ..... 80**

## SİMGELER DİZİNİ

| | |
|---|---|
| % | Yüzde |
| °C | Santigrat derece |
| bp | Baz çifti |
| gr | Gram |
| L | Litre |
| mL | Mililitre |
| β | Beta |
| µL | Mikrolitre |

## KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---|---|
| CLSI | Klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü |
| CTX-M | Sefotaksimaz (sefotaksim üzerinde aktif β-laktamaz) |
| DNA | Deoksi ribonükleik asit |
| DS | Distile su |
| GSBL | Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz |
| İYE | İdrar yolu enfeksiyonu |
| MDR | Çoklu ilaç direnci |
| mecA | Metisilin dirençli gen A |
| MRSA | Metisiline dirençli *S. aureus* |
| PDR | Tüm antibiyotiklere dirençli |
| PZR | Polimeraz zincir reaksiyonu |
| SHV | Sülfhidril değişken β-laktamaz |
| TEM | β-laktamaz (Temarian) |
| UPEC | Üropatojenik *E. coli* |
| UV | Ultraviyole |

# ŞEKİLLER DİZİNİ


Şekil 2.1 *Klebsiella* türlerinin virülans faktörlerinin şematik gösterimi ..... 11
Şekil 2.2 Gram boyama ile bakteri sınıflandırması ..... 16
Şekil 2.3 Bakteri direnci mekanizması (Wright 2005) ..... 18
Şekil 3.1 Voges-proskauer testi ve metil kırmızı testi ..... 26
Şekil 3.2 Katalaz testi ..... 26
Şekil 3.3 Oksidaz testi; a. Pozitif sonuç b. Negatif sonuç (Holt *et al.* 1994) ..... 27
Şekil 3.4 VITEK-2 sistemi ile bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testi ..... 28
Şekil 3.5 Thermo scientific nanodrop Lite UV görünür spektrofotometre ..... 32
Şekil 3.6 PZR çalışmalarından bazı görüntüler ..... 34
Şekil 4.1 İdrar örneklerinin kültür sonuçları ..... 36
Şekil 4.2 Örneklerin besi yerine ekimi ve inkübasyon sonrası görüntüsü, (A) Besi yerinde üreme göstermedi (B) Besi yerinde üreme gösterdi ..... 36
Şekil 4.3 Pozitif kültürden gram negatif ve pozitif bakteri oranları ..... 38
Şekil 4.4 Kanlı agar (A) ve MacConkey agar (B) koloni görünümü ..... 38
Şekil 4.5 *Escherichia coli* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 39
Şekil 4.6 *Staphylococcus aureus* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni..... PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 39
Şekil 4.7 *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni..... PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 39
Şekil 4.8 *Proteus mirabilis* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 39
Şekil 4.9 *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 40
Şekil 4.10 Gram pozitif bakterilerin antibiyotik direnç/duyarlılık durumları ..... 45
Şekil 4.11 Gram negatif bakterilerin antibiyotik direnç/duyarlılık durumları ..... 47
Şekil 4.12 *Escherichia coli* izolatlarında bla-*CTXM* (247bp), *bla-SHV* (410bp), *bla-TEM* (531bp) ve *bla-AMPC* (670bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 51
Şekil 4.13 *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında bla-*CTXM* (247bp), *bla-SHV* (410bp), *bla-TEM* (531bp) ve *bla-AMPC* (670bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 51
Şekil 4.14 *Proteus mirabilis* izolatlarında bla-*CTXM* (247bp), *bla-SHV* (410bp), *bla-TEM* (531bp) ve *bla-AMPC* (670bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 51
Şekil 4.15 *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında bla-*CTXM* (247bp), *bla-SHV* (410bp), *bla-TEM* (531bp) ve *bla-AMPC* (670bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 52
Şekil 4.16 *Staphylococcus aureus* izolatlarında metisilin *mecA* geninin (683bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü ..... 53
Şekil 4.17 *Staphylococcus aureus* izolatında mecA gen dizisi filogenetik ağaç ..... 58
Şekil 4.18 Lokal *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* IQ izolatlarında beta-laktamaz (*blaCTX-M*) genine dayalı filogenetik ağaç analizi ..... 64

# ÇİZELGELER DİZİNİ


Çizelge 2.1 *Enterobacteriacea*'nın taksonomik sınıflandırması ..... 7
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihaz ve ekipmanlar ..... 21
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar ..... 22
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan kültür ortamları ..... 22
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan kitler ..... 23
Çizelge 3.5 Çalışmada kullanılan PZR tespit kitleri ..... 29
Çizelge 3.6 Çalışmada kullanılan moleküler kimyasallar ve çözücüler ..... 30
Çizelge 3.7 16S ribozomal RNA geni PZR primerleri ..... 30
Çizelge 3.8 Beta laktam antibiyotik direnç genleri ..... 30
Çizelge 3.9 Standart PZR ana karışım protokolü ..... 33
Çizelge 3.10 PZR termal döngü cihaz programı ..... 33
Çizelge 4.1 İdrar örneğinden mikrobiyal izolasyon ..... 40
Çizelge 4.2 Hamilelik evreleri ve enfeksiyon yüzdesi ..... 43
Çizelge 4.3 Yaş gruplarına göre İYE yüzdesi ..... 44
Çizelge 4.4 Gram pozitif bakterilerde antibiyotik direnç dağılımı ..... 46
Çizelge 4.5 Gram pozitif bakterilerde çoklu ilaç direnci ..... 46
Çizelge 4.6 Gram negatif bakterilerde antibiyotik direncinin dağılımı ..... 48
Çizelge 4.7 Gram negatif bakterilerde ilaç direnci ..... 48
Çizelge 4.8 Gram negatif bakteri izolatları arasında GSBL genlerden *TEM*, *SHV*, *AMPC* ve *CTX-M* dağılımı ..... 52
Çizelge 4.9 *S. aureus*'ta *mecA* geninin çoklu dizi (sekans) hizalama analizi ..... 54
Çizelge 4.10 *Staphylococcus aureus mecA* geninin çoklu dizi hizalama analizi ..... 55
Çizelge 4.11 NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi ..... 58
Çizelge 4.12 *E. coli*'de *CTX-M* geninin çoklu dizi hizalama analizi ..... 59
Çizelge 4.13 *P. mirabilis*'te *CTX-M* geninin çoklu dizi hizalama analizi ..... 60
Çizelge 4.14 *K. pneumoniae*'de *CTX-M* geninin çoklu dizi hizalama analizi ..... 60
Çizelge 4.15 *P. aeruginosa*'da *CTX-M* geninin çoklu dizi hizalama analizi ..... 61
Çizelge 4.16 *E. coli, P. mirabilis, K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatlarından *blaCTX-M* geni çoklu dizi hizalama analizi ..... 61
Çizelge 4.17 *blaCTX-M* geni NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi ..... 65

# 1. GİRİŞ

İdrar yolu enfeksiyonu (İYE), her yaşta kadın ve erkek arasında yaygın olarak görülen sağlık sorunlarından biridir. Kadınlar erkeklerden daha fazla etkilenir. Bunun nedeni kadınlarda üretranın kısa olması, vajinaya ve çıkış açıklığına yakınlığıdır. Ayrıca fırsatçı hale gelen enfeksiyon doğal flora ile kontaminasyona yol açarak idrar yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Flores-Mireles *et al.* 2015).

Hamilelik, idrar yolu enfeksiyonu (İYE) riskini artıran faktörlerden biridir. Özellikle böbreklerde enfeksiyona dönüştüğünde, tedavi edilmezse anne ve fetus için komplikasyonlara ve risklere yol açar (Andersson *et al.* 2012). İdrar yolu enfeksiyonları her yaştan gebe kadınlarda ve gebeliğin farklı evrelerinde görülür. 21 ile 25 yaşları İYE geliştirme olasılığı en yüksek olan yaşlardır. Ayrıca gebeliğin üçüncü trimester safhası İYE'li gebeliğin en yaygın aşaması olabilir (Fareid 2012).

Üriner sistemin herhangi bir noktasında bakterilerin varlığı ve çoğalması İYE'ye neden olur. Sindirim sistemindeki bakteriler üretraya girer ve böbrekleri, mesaneyi ve idrarın herhangi bir bakteri, mantar veya viral kirlilikten yoksun olduğu üretral sistemi içeren üriner sistemde çoğalır. Sistit ve üretrit, alt kanallarda (üretra ve mesane) başlayan üriner sistem enfeksiyonlarıdır. Tedavi edilmediği takdirde enfeksiyona yol açabilen bir üst idrar yolu enfeksiyonuna neden olabilir (Peleg and Hooper 2010).

Yapılan çalışmalar, üropatojenik *Escherichia coli'*nin, konakçının bağışıklık sistemi tehlikeye girdiğinde veya konakçının değiştirildiğinde fırsatçı enfeksiyonlara neden olabileceğini göstermiştir (Schroeder *et al*. 2017). Antibiyotik kullanan hamile kadınlarda idrar yolu enfeksiyonlarının ikinci en yaygın nedeni *Staphylococcus aureus*'tur (Moyo *et al*. 2010).

Hamilelikte idrar yolu enfeksiyonları (İYE) asemptomatik veya semptomatik olarak karakterize edilir. Asemptomatik bakteriüri, akut idrar yolu enfeksiyonu belirtileri olmadan bakteriüri varlığı olarak tanımlanır ve semptomatik enfeksiyona ve gebelik

komplikasyonlarına doğru ilerleyebilir. Çünkü idrar kültürü asemptomatik bakteriüriyi saptamak için altın standarttır. Tüm hamile kadınlarda gebelikleri boyunca özellikle üçüncü trimesterde asemptomatik bakteriüri kontrol edilmelidir (Schnarr and Smaill 2008).

Bu tezde, gebe kadınlarda İYE'lerin nedensel ajanların tanımlamak, izolatların antibiyotik direnç/duyarlılık durumunu belirlemek, bazı direnç genlerinin varlığını araştırmak, *mecA* ve *CTX-M* genlerinin dizi ve filogenetik analizlerini yapmak amaçlanmıştır.

# 2. LİTERATÜR ÖZETİ

## 2.1 İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE)

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), hem toplumda hem de hastanelerde insanlarda en yaygın bakteriyel hastalıklardan biridir. İYE her yıl milyonlarca kişiyi etkileyen ciddi bir hastalıktır. Vücutta en sık görülen ikinci enfeksiyon türü idrar yolu enfeksiyonlarıdır (Salvatore *et al*. 2011). İYE, bakterilerin üretranın açılmasından renal kortekse kadar uzanan üriner sistem dokularını istila etmesiyle ortaya çıkar. Klinik semptomları, tanı ve tedavi sorunları, yaralanma ve üriner sistemdeki doğum kusurlarının ortaya çıkıp çıkmamasına bağlı olarak farklılık gösterir. Üriner sistemin fekal bakterilerle basit kontaminasyonu nedeniyle, kadınlar fizyolojik ve anatomik nedenlerle tipik olarak erkeklerden daha fazla enfekte olurlar (Al-Khafaji and Al-Thahab 2017). İYE parazitler, mantarlar ve virüsler dahil olmak üzere üriner sistemde yaşayan herhangi bir canlı tarafından üretilebilir, ancak bakteriler en yaygın nedenleridir. Özellikle bağırsakta bulunan *E. coli*, *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp. dahil olmak üzere birçok bakteri türünün araştırmalarda İYE'ye neden olduğu gösterilmiştir. İdrar yolu enfeksiyonları; şiddetine göre ve enfeksiyon bölgesine göre 2 grupta sınıflandırılabilir (Flores-Mireles *et al*. 2015).

Şiddetine göre, üriner sistemde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olmadan sağlıklı kişilerde idrar yolu enfeksiyonunu içeren karmaşık olmayan İYE'ler (Hooton 2000) ile çeşitli faktörlerin varlığının bir sonucu olarak idrar yolu enfeksiyonu ve böbreklerin yapısında ve işlevinde bozukluklar, idrar akışını engelleyen taşların varlığı nedeniyle üretranın tıkanması, mesanede periferik sinir iltihabı, mesaneden idrar reflüsü, konağın bağışıklık tepkisinin inhibisyonu ve antibiyotik direnci gibi semptomlar oluşturan karmaşık İYE'ler (Nahar *et al*. 2010).

Enfeksiyon bölgesine göre; alt ve üst İYE olarak sınıflandırılabilir. Üretra, mesane ve prostat enfeksiyonları alt grupta bulunmaktadır. En sık görülen semptomlar dizüri ve tekrarlama, idrarda hematüri veya irin varlığı, piyüri, alt karında rahatsızlık, idrara çıkma sonrası mide ekşimesi olarak sıralanabilir. Erkeklerde prostat salgıları bakteriyostatik bir

etkiye sahip olduğundan ve genellikle üretradan çıkan bir yaralanma ile sonuçlanan enfeksiyon komşu bezlere ulaşark erkeklerde prostat iltihabına neden olur, kadınlarda ise üretranın daha kısa olması ve cinsel organlara ve anüse daha yakın olması nedeniyle enfeksiyon üretradan mesaneye kadar uzanır (Subramanian *et al*. 2011). Üst İYE ise, bakterilerin böbrek dokularını istila etmesiyle (piyelonefrit) ortaya çıkan bir hastalıktır. Semptomlar ateş, titreme, bel ağrısı, yorgunluk ve nadiren kusma, mide rahatsızlığı ve mide bulantısını içerir (Lane and Takhar 2011).

İdrar yolu enfeksiyonu bulaşma yöntemlerine göre artan enfeksiyonlar ve hematojen (lenfojen) yol olarak 2 gruba ayrılır. Artan enfeksiyonlar kadınlarda üretranın vajina ve anüse yakın olması nedeniyle enfeksiyon üretra açıklığından mesaneye bulaşır, bu da üretra açıklığında mikropların varlığını ve kolonizasyonunu kolaylaştırır. Buna bağlı olarak enfeksiyon mesaneye muayene yoluyla da bulaşabilir veya tedavi araçları olarak kullanılan ve hastanın vücuduna mikropları iten bir kateter kullanımı enfeksiyona neden olabilir (Flores-Mireles *et al*. 2015).

Hematojen veya lenfojen yol ile bakterilerin yayılımı diğer bulaşma oranlarına göre daha düşüktür. Özellikle sistemik bir hastalık sonucu bakteriyemi sonucu ortaya çıkarlar. Bu durum bakterilerin böbreklere ulaşmasına ve dokularda bakteri invazyonuna neden olabilir. Üretra çevresindeki damarlar veya mikroplar kolon ve rektumun lenfatik kanallarından geçerek idrar yolu enfeksiyonuna neden olabilir (Flores-Mireles *et al*. 2015).

İdrar yolu enfeksiyonu risk faktörleri arasında idrar yolu kateterizasyonu, diyabet hastaları, gebelik, yaş ve cinsiyet yer alır. İdrar sondası kullanımı, özellikle diyabetli ve yaşlılarda daha tehlikeli bir durum olan biyofilm oluşumuna yol açmaktadır (Johansen and Naber 2015). Şeker hastalarında idrarla artan şeker atılımı nedeniyle idrar yolu enfeksiyonu insidansı artar, bu da idrarda mikropların büyümesini teşvik eder ve bu enfeksiyonun yayılması ve polinefrit oluşumu nedeniyle enfeksiyonları daha tehlikeli hale getirir (Najar *et al*. 2009). Gebelik ve gebelik süreci İYE insidansını artıran faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (Adabara *et al*. 2012). İYE her yaşta ve her iki cinsiyette görülebilen bir hastalıktır. Erkeklerde prostat hastalıklarındaki artışa bağlı

olarak 65 yaş ve üzerinde %13-40, kadınlarda ise 16-35 yaş arası %20-50 oranında görülmektedir. Okul çağındaki erkeklerde enfeksiyon nadir olarak tespit edilirken kızlarda enfeksiyon %0,1'dir (Orrett and Davis 2006).

### 2.1.1 İdrar yolu enfeksiyonu bulaşma yolları

İdrar yolu enfeksiyonları, hamile kadınlarda anemiden sonra en sık görülen ikinci sorundur ve her ikisi de tedavi edilmezse, özellikle birden fazla enfeksiyon geçirmiş kadınlarda ciddi sonuçlara yol açabilir (Prakash 2012).

Özellikle üretrit ve sistit, hamile kadınlarda en sık görülen enfeksiyonlardır ve vakaların %30'unda sistite ve %50'sinde akut nefrite yol açmaktadır. Tedavi edilmezse hem anne hem de fetüs için komplikasyon riskini artırır (Haider *et al*. 2010). Hamilelik sırasında gelişen İYE preeklampsi, yüksek tansiyon, akut nefrit, anemi ve erken doğum, düşük doğum gibi olumsuz gebelik sonuçlarına neden olur. Sistit, dizüri ve ateş varlığında sıklıkla idrara çıkma dürtüsü gibi semptomlarla asemptomatik inflamasyondan ayırt edilirken nefrit; ateş, bulantı, titreme, kusma gibi sistemik semptomlarla kendini gösterir (Moyo *et al*. 2010).

Hamilelik üç evreye ayrılır. İlk üç aylık dönem birinci haftadan on ikinci haftaya kadar olan kısımı, ikinci üç aylık dönem on üçüncü haftanın başından yirmi sekizinci haftaya kadar ve üçüncü üç aylık dönem yirmi dokuzuncu haftanın başından doğuma olan zamanı kapsamaktadır (Waddell *et al.* 2001).

Gebelerde İYE, gebeliğin altıncı haftasından başlar ve 22-24. haftalarda en üst seviyeye çıkar. *E. coli* bakterisi gebelerde %70-90 oranında İYE'ye neden olan en yaygın patojenlerden biridir (Santos *et al*. 2002). Gebeliğin 9-17. haftaları arasında bakteriyel diürez riskinin yüksek olması nedeniyle gebe kadınlarda diürezi kontrol etmek ve İYE insidansını önlemek ve gerekli tedaviyi almak için en ideal zaman 16. haftadır (Gayathree *et al.* 2010).

Hamilelik sırasında idrar yolu enfeksiyonlarının ortaya çıkmasına ve gelişmesine katkıda bulunan birçok faktör vardır. Bunlar arasında ürogenital sistemde meydana gelen değişiklikler ve genişlemiş uterus en sık rastlanan faktörler arasındadır. Uterus mesanenin işleyişinde dengesizliğe yol açan mekanik basınç oluşturarak idrarın durgunlaşmasına neden olan bakteri üremesine ve idrarı çıkarmada zorluğa sebep olur (Girishbabu *et al*. 2011).

Hamilelik boyunca plazma hacminde artışa neden olan fizyolojik değişiklikler, idrar konsantrasyonunu düşürdüğü gibi, gebe kadınların %70'inden fazlasında daha yüksek bir kan şekeri seviyesine ve amino asit konsantrasyonunda artışa neden olur. Buna bağlı olarak idrarda bakteri gelişimi oluşarak idrar yolu enfeksiyonu ortaya çıkar (Obiogbolu *et al*. 2009).

Progestin ve östrojen hormonlarındaki artış, üreterlerin ve mesane kaslarının zayıflamasına neden olur, bu da mesanenin boyutunun artmasına ve kasılmanın azalmasına neden olur. Böylece alt idrar yolunun mikrobiyal istilaya direnme kabiliyeti azalarak bazı bakteri türlerinin üremesine olanak sağlar (Girishbabu *et al*. 2011).

Kadın üretrasının fonksiyonel birlikteliği, vajinaya ve anüse yakınlığı, ıslak kalması, kontaminasyona neden olmasının yanı sıra gebelikte cinsel aktivitelerin artması vb. nedenler enfeksiyonların idrar yollarına girişine yardımcı olup bakterilerin üremesine sebebiyet verir (Haider *et al*. 2010).

Gebe kadınlarda cinsel organların ve çıkış ağzının iyi temizlenmesinin zor olması, zayıf beslenme ve gebelikte vücut direncinin azalması ya da sık antibiyotik kullanımı gibi nedenler kadınlarda İYE oluşumunda artışa neden olur (Obiogbolu *et al*. 2009).

## 2.2 Hamile Kadınlarda İYE'ye Neden Olan En Yaygın Bakteriler

### 2.2.1 İYE'ye neden olan gram negatif bakteriler

*Enterobacteriacae*; familyası dünyada en çok çalışılan organizmalardan kabul edilir ve çok sayıda üyesi vardır. Taksonomik sınıflandırması ve yer alan üyeler (Çizelge 2.1)'de verilmiştir. Tıbbi mikrobiyologlar için kritik öneme sahiptir çünkü Gram negatif bakteriler klinik olarak ilgili bakterilerin %80'ini oluşturabilir (Bajpai *et al.* 2014). *Klebsiella-Enterobacter* spp.'nin kapsülü gibi belirli sınıfların katı ortamlarda tanımlamaya yardımcı olabilecek farklı özellikleri vardır (Thenmozhi *et al.* 2014).

*Enterobacteriaceae* ailesi Gram negatif, düz çubuklardan oluşur. *Shigella* ve hareketsiz *Klebsiella* hariç, birçok takson kamçıya sahiptir. Fakültatif anaerobiktirler ve türlerin çoğu 37°C civarında gelişir, ancak bazıları 25-30°C'de en iyi gelişimi sağlar. Peptonlu ortamda gelişirler. Oksidazdan yoksundurlar ve katalaz tepkileri bağırsak bakterileri arasında farklılık gösterir. *Erwinia*'nın belirli suşları dışında, nitratı nitrite dönüştürürler. Genellikle; toprakta, bitkilerde, suda, insanlarda ve hayvanlarda bulunurlar (Brooks *et al*. 2007) (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1** *Enterobacteriacea*'nın taksonomik sınıflandırması

| | |
|---|---|
| **Alem** | *Eubacterai* |
| **Filum** | *Proteobacteria* |
| **Sınıf** | *Gamma proteobacteria* |
| **Alt sınıf** | *Enterobacteriales* |
| **Aile** | *Enterobacteriaceae* |
| **Cins** | *Enterobacteria* spp., *Escherichia* spp, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp. |

*Escherichia coli* 1885 yılında Alman-Avusturyalı Doktor Theodor Essrich tarafından sağlıklı insanların dışkısında keşfedilmiştir. Kolonda bulundukları için koliform bakteri olarak adlandırılırlar. Bu prokaryotların şekli ve yapısı sayesinde cinsler arasında ayrım yapılabilmektedir. 1895'te, ilk olarak *Bacillus coli* olarak adlandırılsada, daha sonra

yapılan laboratuvar çalışmalarında koliform bakteri olarak tespit edildiğinden *Escherichia* cinsi olarak yeniden adlandırılmıştır (Grabe *et al*. 2008).

Bu tür, fakültatif anaerobik, Gram negatif basiller olan *Enterobacteriaceae* familyasına aittir ve peritoneal flagella, laktoz-şeker fermentasyonu pozitif katalaz, negatif oksidaz ve indirgenmiş nitrat içerdikleri için hücreleri hareketlidir (Brooks *et al*. 2007). Ayrıca gebelerde idrar yolu enfeksiyonuna neden olan en yaygın patojenik bakteriler arasında yer almaktadır. Gebelerin %75-80'ninde enfeksiyona neden olan bakteriler, bu hayatta kalabilme yetenekleri sayesinde komplike olmayan sistit ve akut nefrite neden olmaktadır. Üriner epitel hücreleri birçok faktöre sahiptir. Toksin üretimi, demir taşıyıcılar ve kapsüller gibi spesifik virülanslar ve fimbria varlığı, ürotelyal hücreler üzerindeki reseptörlere bağlanmalarını artıran ve onları daha fazla hale getiren P-Fimbria cilia suşlarının tutunmasına yardımcı olmaktadır (Terlizzi *et al*. 2017).

1885 yılında Alman bilim adamı Theodor, yenidoğanların dışkılarından bağırsaklardaki normal bakterileri araştırarak *E. coli*'yi doğumdan sonra bağırsakları kolonize eden simbiyotik bir bakteri olarak tanımlamıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda İngiltere'deki ishalin başlıca nedeninin *E. coli* bakterisi türü olduğunu keşfetmiştir ve enterik *Escherichia coli* (EPEC) olarak adlandırmıştır (Garrity *et al*. 2005).

Bakteriler üriner sisteme hematojen veya lenfatik yollarla girebilse de, yapılan çalışmalar mikroorganizmaların üretradan çıkışının kadınlarda İYE'ye yol açan en yaygın yol olduğunu göstermiştir (Grabe *et al*. 2008). Ayrıca enfeksiyonların patogenezinin, patojenler tarafından üretilen çeşitli toksinlerin neden olduğu virülans faktörleri, çoklu ilaç direnci ve sitotoksisite üzerine etkili olduğu bulunmuştur (Bashir ve Ismail Ramay 2010). İdrar yolundaki mikroorganizmalar; idrar hareketinin mekanik yolu, mesaneyi kaplayan epitel hücreleri tarafından üretilen ve salgılanan idrardaki antimikrobiyal maddeler, nötrofil eradikasyonu ve yüzeyel hücrelerin atılımı dahil olmak üzere çeşitli savunma hatlarının üstesinden gelmelidir. Sonuç olarak, idrar yolu hasarı şiddetlidir, bu da konakçıda akut böbrek enfeksiyonu oluşumunun yanı sıra doku hasarına neden olur. Bir enfeksiyon, FımH tip 1 fimbriyanın mesanenin ürotelyumundan 3 ve 1 integrine sıkı ve geri dönüşümsüz tutunması ile başlar, ardından bakteriyel proliferasyon ve istila ile

sonuçlanır. Tutunma aşamasını takiben, *E. coli* böbrek tübülünü istila ederek böbrek hücrelerine zarar verecek ve daha sonra böbrek epitel hücrelerine bağlanacak ve burada enfeksiyonun konak doku boyunca yayılmasına yardımcı olan toksinler salgılayacaktır. Böylece hücresel bütünlük bozulmuş olacaktır (Terlizzi *et al*. 2017).

*Klebsiella türleri Enterobacteriaceae* familyası, *Flagella* yerine filamentli bakteriler ile spor oluşturmayan çok sayıda çubuk şeklinde gram negatif bakterileri içerir. Bunlar ayrıca lipopolisakkarit (O antijeni) ve kapsüler polisakkarit (K antijeni) gibi antijenleri de bulundurur (Podschun and Ullmann 1998). 1882'de Carl Friedlander, *Klebsiella pneumoniae* olarak bilinen bakteri türünü zatürreden ölen birinin akciğerlerinden ilk defa izole etmiştir. Daha sonra 1886 yılında *Klebsiella pneumoniae* ve Kızıl Yıldız *Bacillus* adını dünya literatürüne kazandırmıştır (Jondle *et al*. 2018).

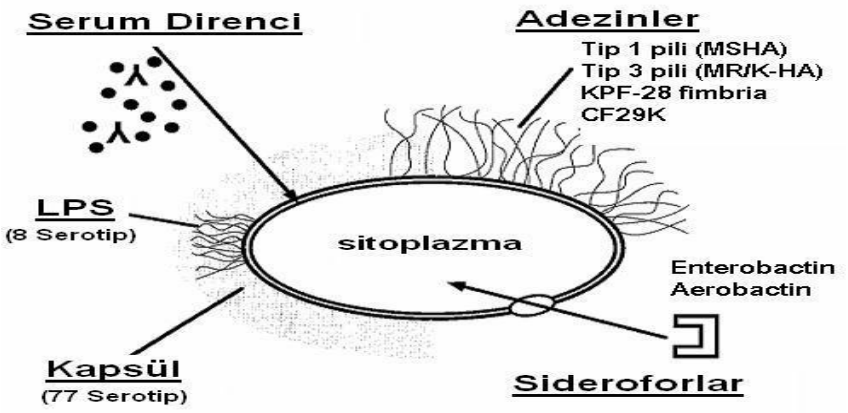
Mikrobiyologlar, *Klebsiella bacillus*'un Carl Friedlander tarafından keşfinden sonra akciğer enfeksiyonu olan hastalardan ilk defa izole edilen kişinin Alman ressam Edwin Kleips'in (1834-1913) olduğunu savunmaktadırlar. İnsanlarda *K. pneumoniae* enfeksiyonunun klinik paterni, bu bakterinin bir asırdan fazla bir süre önce keşfedilmesinden bu yana değişmiştir. *K. pneumoniae* bakterisi toplumdan edinilmiş bakteriyel enfeksiyonların, hastane kaynaklı pnömoninin en yaygın nedenidir. Ayrıca hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların %3-8'ini oluşturmaktadır (Agha *et al*. 2018).

Enterobacteriaceae familyası içerisinde en erken tanınan *Klebsiella* cinsidir. 1885'te Trevisan tarafından taımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda bir asırdan fazla bir süre önce toplum kökenli mikrobiyal pnömoniye neden olan en yaygın organizma olarak belirlenmiştir. Klebsiella, 0,3-1 m çapa ve 0,6-6 m uzunlukta, çubuk şekilli hücrelere sahip, Gram negatif, spor oluşturmayan, hareketsiz bir bakteridir ve göze çarpan bir polisakkarit bazlı hücre kapsülü içine alır. Seçici besiyerinde (MacConkey) yetiştirildiklerinde tek başlarına, çiftler halinde veya küçük zincirler halinde aynı anda gelişebilir. Bakteri fakültatif olarak anaerobiktir ve koloniler büyük, mukoid ve tipik olarak dağınık kırmızı bir renk tonuna sahiptir. Klebsiella, lağım suyu, yüzey suyu, bitkiler, toprak ve memelilerin mukozal yüzeylerini (insanlar ve bazı hayvanlar dahil) enfekte edebilir. *Klebsiella* insanlarda yaygındır ve deri farenksini veya yolunu kolonize

ederek pnömoniye, seyehat enfeksiyonuna, septisemiye, yanık enfeksiyonlarına ve seminal enfeksiyona neden olabilir (Feglo *et al*. 2010). Zatürre, septisemi, menenjit ve yara enfeksiyonları gibi hastalıklara neden olurlar (Peleg and Hooper 2010). Son araştırmalar, *K. pneumoniae*, farklı ortamlara uyum sağlaması ve antibiyotik tedavisi gibi ekolojik zorluklara yanıt vermesine yardımcı olan çok sayıda virülens genine sahiptir (Moradigaravand *et al*. 2017).

Konağın savunma sistemleri, enfeksiyonun vücutta nerede bulunduğuna bağlı olarak değişir. Pnömoni hastalarının akciğerlerinden izole edilen pnömokok bakterilerinin adezyon, demir edinme sistemleri, serum direnci, polisakkarit kapsülü ve biyofilm gelişimi *K. pneumoniae'de* görülen virülans faktörleridir (Turton *et al*. 2010). Ayrıca, klinik ekipmanlarda (örn. kateterler) pulmoner biyopsinin neden olduğu enfeksiyonlar, *TEM* enzimleri ve *SHV*-laktamazlar gibi uzun etkili β-laktamazlara dirençli ilaçlar *K. pneumoniae* suşlarında görülmüştür ve bunlar hastalığın patogenezine katkıda bulunabilir (Sharma *et al*. 2015).

*Klebsiella*, *Escherichia coli* ile birlikte, hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların %3-7'sini oluşturur ve bu durum ABD hastanelerinde en yaygın sekiz mikroorganizmadan biri olmasını sağlamıştır (Sarathbabu *et al*. 2012). Ancak bazı araştırmalar *Klebsiella* türlerinin, özellikle *K. Pneumoniae'nin*, septik endoftalmi ve ekstrahepatik türlerin enfeksiyonu dahil olmak üzere termofilik ve termofilik kökenli enterotoksinlerin neden olduğu karın içi enfeksiyonlar ürettiğini ortaya koymuştur. Yüksek viskoz *Klebsiella* (hvKP) suşu, hastane enfeksiyonlarına ve bağışıklık hastalıklarına neden olabilen nadir bir *Klebsiella*'dır. *Klebsiella* türlerinin virülans faktörlerinin şematik gösterimi Şekil 2.1 de verilmiştir (Lin *et al*. 2013).




**Şekil 2.1** *Klebsiella* türlerinin virülans faktörlerinin şematik gösterimi (Podschun and Ullmann 1998).

*Proteus* 1885'te Alman bilim adamı Hauser, *Proteus vulgaris* ve *Proteus mirabilis* olmak üzere iki türün adlandırmasını yapmıştır. Smith Theobald, *P. vulgaris'*in glikoz, laktoz ve sükroz tüketimindeki aktivitesini analiz eden ilk araştırmacıdır ve 1893'te *P. vulgaris'*in sükroz, glikoz ve laktozdan gaz ve asit oluşturma yeteneğini tanımlamıştır (Gross *et al*. 2018). 1919 yılında 73 *Proteus* suşu biyokimyasal tepkiler için test edilmiştir. Hepsinde kümelenme davranışı, kazeini sindirebilme ve jelatini sıvılaştırabilme özellikleri izlenmiştir. Proteus cinsi *Enterobacteriaceae* familyasına ait olup fırsatçı Gram negatif, hareketli, kemirgen olarak karakterize edilen bir bakteri türüdür. İnsan ve hayvan bağırsaklarında olduğu kadar gübre ve kanalizasyonda da mevcuttur (Al-Bassam and Al-Kazaz 2013). 36°C'de katı ve yarı katı yüzeylerde hareket edebilir. Fermantasyon metabolizmaları hem aerobik hem de anaerobik ortamlarda gelişmelerini sağlar. *Proteus* spp. toprakta, suda ve insanlar dahil hayvanlarda bulunabilir. *Proteus* spp. doğal ortamda, hayvansal kaynaklardan gelen organik materyalin ayrıştırılmasına yardımcı olan saprofitler olarak önemli bir rol oynarlar (Drzewiecka 2016). *Proteus* spp. suşları katı yüzeyler üzerinde peritrik yoluyla seyahat edebilir, kemo-organotrofiktir, solunum ve fermentatif metabolizmaya sahiptir ve kalıcı kateterleri olan kişiler için üreyi hızla hidrolize edebilir. *Proteus mirabili*s, *Proteus vulgaris* ve *Proteus penneri* en yaygın patojenlerdir. *Proteus mirabilis* idrar yolu enfeksiyonları, sistit, bakteriüri, mesane ve böbrek taşları ve şiddetli piyelonefrite neden olur (Gross *et al*. 2018).

Üriner sistem, karışık bir kommensal floraya sahiptir. Enfeksiyon, yalnızca bakteriyel patojenite, konağın düzenli savunma mekanizmalarından daha fazla olduğunda ortaya çıkar (Schaffer and Pearson 2017). Vücutta fagositik hücreler idrar yolu duvarları gibi spesifik olmayan immünolojik mekanizmalar, lenfositler ve diğerleri gibi spesifik immünolojik savunma mekanizmaları gibi doğal savunma sistemleri vardır. *Proteus* spp. kamu ve özel hastanelerde en sık görülen üropatojenlerdir (Dougnon *et al*. 2020). Vücudunda idrar sondası olan bireylerde baskın enfeksiyon faktörüdür. *P. mirabilis* solunum ve yara enfeksiyonlarına, gıda zehirlenmesine, bakteriyemiye ve diğer hastalıklara neden olabilir (Sun *et al.* 2020*).* Son beş yılda sütten kesilmiş ishalli bebek rhesus'unu maymunlarında, üreyemeyen kuşlarda, kronik otitis eksternalı yaban gelinciği köpeklerinde *P. mirabilis* ile enfeksiyona bağlı hastalıklar bulunmuştur. *P. mirabilis* katastrofik enfeksiyonlar üreten fırsatçı bir patojen olarak tespit edilmiştir ve göz ardı edilmemelidir (Yu *et al*. 2015).

*Pseudomonacea* spp. tek başına veya kısa, polariteli hareketli zincirlerde bulunabilen 192-196 mikrometre çapında gram negatif bir basildir. Bir veya daha fazla polar flagellaya sahip, sporsuz, *Enterobacteriace* ailesi enzimleri katalaz ve oksidaz için pozitiftir. Ancak fermentasyon yerine oksidasyon yoluyla karbonhidratlardan enerji elde etmesi ve fakültatif anaerob olmaları bakımından farklıdır. Şekere fermente edilmedikleri için fermente edici olmayanlar olarak adlandırılırlar (Levinson 2016). Tıbbi yüzeylere ve ekipmana tutunmalarına yardımcı olan ve hastane enfeksiyonu ve zararlı bakteri üretimi ile sonuçlanan temel büyüme uyarıcılarının yokluğunda bile, büyüme ve hayatta kalma kapasitesine sahiptirler. Bu bakteri dezenfektanlara dayanacak olağanüstü bir direnç kapasitesine sahiptir, bu nedenle hastanelerde edinilen enfeksiyonlara bu direnç yardımcı olur. Sudhakar vd. (2015) tarafından dezenfektanlarda ve deterjanlarda keşfedilmiştir. Ayrıca şekeri fermente edememesi nedeniyle MacConkey agarında soluk renkte koloni oluşturur. Kanlı agarda koloniler siyah görünür ve yarı saydam bir halka ile çevrilidir. Hemolizin sentezine bağlı olarak hemoliz 78°C sıcaklıkta da gelişebilir (Hossain *et al*. 2013).

*P. aeruginosa* hem sağlıklı hem de bağışıklığı baskılanmış kişilerde hastalığa neden olur. Bu bakteriler fırsatçı patojenlerdir. Hastalara yanık ve yaralar yoluyla ulaşma yetenekleri

nedeniyle büyük çapta hastane kaynaklı hastalıkları oluşturma potansiyeline sahiptir. Enfeksiyon, fagositik hücreler tarafından üretilen ve protein sentezini engelleyen, doku nekrozuna ve iyileşmenin gecikmesine neden olan uzama faktörü 2 ile bir kompleks oluşturan toksik bir protein olan ekzotoksin tarafından oluşturulur. Yanık yaraları, ateşe neden olan endotoksin ve difteri toksini ile aynı oldukları için ölüme neden olur (Al-Hazmi2015).Yanıklarda, yaralarda ve yapısal hasarlarda, ekzotoksinlerin (Exo. t, Exo. u, Exo. y) üretimi, *P. aeruginosa* bakterileri tarafından tip III sıralama sistemi ile enjekte edilen dokuların kolonizasyonu ve lokal invazyonu için gereklidir (Tzika *et al*. 2015).

Menenjit, orta kulak iltihabı, idrar yolu enfeksiyonu, kemik ve eklem enfeksiyonu, orta kulak iltihabı, mide-bağırsak enfeksiyonları (gastrointestinal enfeksiyon), cilt ve yumuşak doku (endokardit) ve pnömoni, özellikle kistik fibrozlu kişilerde ve özellikle ciddi yanıkları ve lösemisi olan kişilerde kan zehirlenmesine (septisemiye) yol açar (Levinson 2016).

### 2.2.2 İYE'ye neden olan gram pozitif bakteriler

*Staphylococcus* türleri hareketsiz anaerob ve gram pozitif koklardır. Bu cinsin üyeleri, geniş bir yelpazede enfeksiyonlara neden olduklarından, enfekte bireylerin klinik örneklerinden en sık izole edilen bakteriler arasındadır. *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis* sık olarak karşılaşılan iki türdür. *S. aureus* doğal olarak deri ve mukoz membranlarda bulunur. *S. epidermidis* ise insan için patojen ve daha az fırsatçı olan bir bakteridir. Bu bakteri, özellikle kateterli hastalarda (%82), bakteriyemi, endokardit ve menenjit olmak üzere idrar yolu enfeksiyonuna neden olur. Patojenitesi, hasara neden olmasına izin veren çeşitli virülans özelliklerinin varlığından ve kapsülit gibi tutunma faktörlerinin yanı sıra çeşitli enterotoksinlerin ve enzimlerin sentezinden kaynaklanmaktadır (Sinha *et al*. 2000).

*Staphylococcus aureus* hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan bir patojendir ve minör deri, yumuşak doku enfeksiyonlarını, enfektif endokardit, osteomiyelit bakteriyemi ve ölümcül pnömoni gibi çeşitli hastalıklara neden olabilir (Sinha *et al*. 2000). *S. aureus* ilk olarak 1880'de cerrah Alexander Ogston tarafından

İskoçya'nın Aberdeen kentinde ülser yaraları olan hastalarda tespit edilmiştir. *Staphylococcus aureus* Gram pozitiftir, mikroskop altında 0,8 m çapında bir "üzüm salkımı" şeklinde görülür, aerobik veya anaerobiktir ve en iyi 37°C'de ve pH 7,4'te çoğalma gösterir (Guo *et al*. 2020). Tıbbi cihazlara tutunması ve biyofilm oluşturma eğilimleri sayesinde bakteriyemi, cilt bulaşmaları, menenjit, protez eklem bulaşmaları ve endokardit sayılabilecek çeşitli hastalıklara neden olabilen fırsatçı bir patojendir. Proteazlar ve hemolizinlerin yanı sıra sitotoksik aktiviteleri nedeniyle patogenezi yüksek olan bir türdür (Szczuka *et al*. 2016).

İskoçyalı bir cerrah olan Alexander Ogston, tıbbi bir tedavi boyunca incelemiş olduğu hastadan irin içinde bakteri kümelerini tespit ettikten sonra, 1880'de *Staphylococcus'*un yara bulaşmasına neden olabileceğini ortaya koymuştur (Szczuka *et al*. 2016). Daha sonra, 1884'te Alman bilim adamı Friedrich Julius Rosenbach, *Staphylococcus albus* adlı bakteriden farklı olan bir tür tespit ederek bunu *Staphylococcus aureus* olarak tanımlamıştır. 1930'ların başlarında, doktorlar *S. aureus* enfeksiyonunun varlığını koagülaz testi ile tespit ediyorlardı. Koagülaz testi, bakteriler tarafından üretilen koagulaz enzimin tanımlanmasını sağlaması nedeniyle tercih ediliyordu. *S. aureus* enfeksiyonları 1940'lardan önce hastalarda ciddi oranda ölümcül sonuçlara neden oluyordu. Ancak doktorlar yaptıkları çalışmalar ile penisilinin *S. aureus* enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılabileceği bulundu. Bu durum ilk başlarda sevindirici bir buluş olarak karşılansa da ne yazık ki penisilin direncinin ortaya çıkmasıyla dirençli suş salgınları meydana gelmeye başladı (Orent 2006) (Şekil 2.2). Bakterinin sahip olduğu virülans faktörleri dirençte rol almaktadır. *S. aureus*'un virülans faktörleri Şekil 2.2'de verilşmiştir.

*Staphylococcus epidermidis* hem insanlarda hem de hayvanlarda bulunabilen, patojenik olmayan, kommensal bir deri ve mukoza zarı bakterisidir. Bununla birlikte, iğnelerin kullanılması veya *Staphylococcus epidermidis* ile enfekte tıbbi cihazların doğrudan yerleştirilmesi, bağışıklığı baskılanmış olan bireylerde fırsatçı bir enfeksiyon olarak karşımıza çıkabilir (Fey and Olson 2010). Bu bakterinin biyofilm oluşturma kapasitesi en önemli virülans faktörlerinden biridir ve tıbbi implantlarla bağlantılı çeşitli kronik enfeksiyonlarda rol oynar. *Staphylococcus epidermidis'*te biyofilm oluşumu iki aşamalıdır. Hücre bölünmesiyle tutturulmuş yüzey proteinleri (örneğin, Fbe, Bhp) ve

hücre duvarı litik enzimi otolizin E (AltE) dahil olmak üzere çeşitli faktörlerle hücre büyümesini ve hücreler arası tutunmayı fazları biyofilm oluşumunda rol alır. Fbe ve AtlE'nin her ikisi de konak faktörleri fibrinojen ve vitronektin için rol alırken, Bhp hem birincil hem de hücre içi tutunmasında rol oynar (Paul *et al*. 2021).

*Staphylococcus saprophyticus* cinsel yönden aktif genç kadınlarda idrar yolu enfeksiyonlarının çoğuna neden olan gram pozitif, koagülaz negatif bir bakteridir (Widerström *et al*. 2012). Üretral alan ile epidermal ve mukozal dokular, bu tür için bir depo olabilir. Deri mikrobiyomunda *Staphylococcus saprophyticus* fırsatçı bir mikroptur. *Staphylococcus saprophyticus* halk sağlığı için sadece insan enfeksiyonlarına neden olma potansiyeli açısından değil, aynı zamanda farklı ortamlarda hayatta kalabilme, antibiyotik direnci sağlayabilen plazmitleri edinmesi ve aktarması bakımından da önemlidir (Roy *et al*. 2009).

## 2.3 Bakterileri Tanımlamak İçin Kullanılan Teknikler

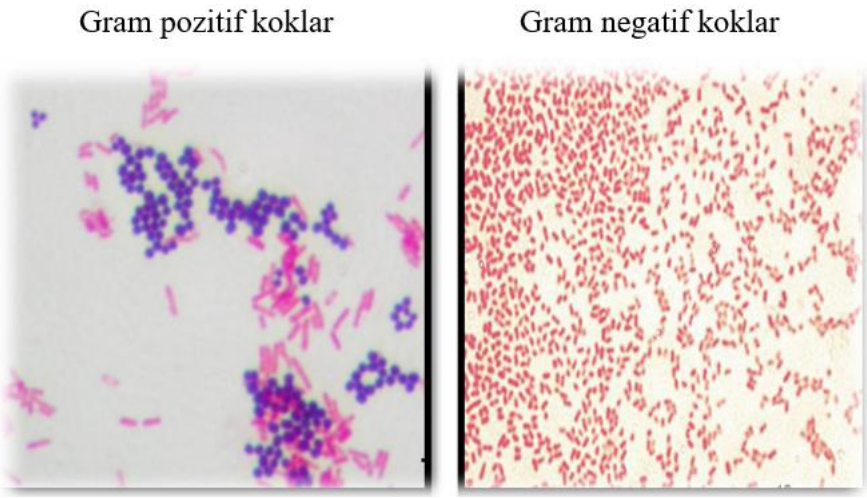
### 2.3.1 Mikroskopi

Mikroskopi, mikroskop altında insan gözünün göremediği küçük canlıların incelenmesidir. Optik ve elektron mikroskopisi en iyi bilinen 2 mikroskopi çeşididir (Gill 2010).

### 2.3.2 Gram boyama

Genellikle Gram yöntemi olarak bilinen Gram boyama, bakterileri gram-pozitif ve gram-negatif olarak hücre duvar yapısına göre ayıran bir renk değişikliğine dayalı analizdir. Bu teknik 1884'te Danimarkalı bakteriyolog Hans Christian Gram tarafından tasarlanmıştır (Megrian *et al*. 2020). Bakterilerin hücre duvarlarının kimyasal ve fiziksel yapıları, Gram boyamada onları ayırt etmek için kullanılır. Ana renk olan kristal moru, hücre duvarlarında kalın bir peptidoglikan kaplaması nedeniyle Gram pozitif hücreler tarafından tutulur. Kristal moru ilavesinden sonra, lekenin hücre zarı ile olan bağlantılarını iyileştirmek için Lugol'un iyot çözeltisi sürekli olarak ilave edilir. Gram-

negatif hücreler daha zayıf bir peptidoglikan tabakaya sahiptir, bu da kristal morunun etanol ile yıkandığında yok olmasına izin verir. Safranin veya fuksin ise genellikle pembe veya koyu kırmızı bir renk oluşturur. Gram boyama, bir bakteriyel organizmanın kimliğini belirlemede sıklıkla kullanılan ilk adımdır. Gram boyama hem klinik hem de bilimsel bağlamda değerli bir analitik araç olmasına rağmen tüm bakterileri kategorize edemez. Gram boyama ile bakteri sınıflandırmasına örnek Şekil 2.2 de verilmiştir (Leboffe and Pierce 2019).




**Şekil 2.2** Gram boyama ile bakteri sınıflandırması

### 2.3.3 Mikrobiyal kültür

Mikrobiyal yaşam tarzı olarak da bilinen bir mikrobiyolojik kültür mikroorganizmaların dikkatle düzenlenmiş laboratuvar koşullarının altında ayrıntılı bir kültür ortamında üremelerine izin veren bir tekniktir. Sıvı, yarı katı ve katı kültür ortamları vardır (Iseri *et al.* 2020).

### 2.3.4 VITEK2 kompakt sistemi

Bu sistem, bireysel bir bilgisayar, kart kasası, kart doldurma mekanizması, kasa doldurma dağıtım mekanizması, kart mühürleyici, barkod okuyucu ve bir kuluçka makinesi gibi çeşitli iç bileşenlere sahip bir okuyucu/inkübatör içerir. Sistem, biyokimyasal tanımlama

testleri ve geniş bir veri içerir. Bu da mikrobiyolojik tanı verimliliğini artırır ve ekstra biyokimyasal test ihtiyacını azaltarak test ve kullanıcı güvenliğini artırır (Yoo *et al*. 2020).

### 2.3.5 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Belirli bir DNA örneğinin milyarlarca kopyasını (tam veya kısmi kopyaları) hızla yapmak için kullanılan bir teknolojidir. Uzmanların küçük bir DNA örneğini elde etmesine ve onu araştırmak için yeterli sayıda çoğaltmasına olanak tanır.1983'te, Cetus Corporation'dan Amerikalı bilim adamı Kary Mullis, PZR'yi tasarlamıştır. 1993'te Mullis ve diğer önemli DNA teknolojilerini keşfeden biyokimyacı Michael Smith yapmış oldukları çalışmlara ile Nobel Kimya Ödülü'nü paylaştılar (Porta and Enners 2012). PZR, eski DNA örneklerinin incelenmesinden, bulaşıcı patojenlerin keşfine kadar çeşitli genetik test ve araştırma yöntemlerini kullanılır. Bir dizi sıcaklık ayarlaması üzerinden, çok küçük miktarlardaki DNA dizilerinin katlanarak çoğaltılmasını sağlar. PZR şu anda, adli tıp dahil olmak üzere çok çeşitli amaçlar için tıbbi laboratuvar araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Yan *et al*. 2019).

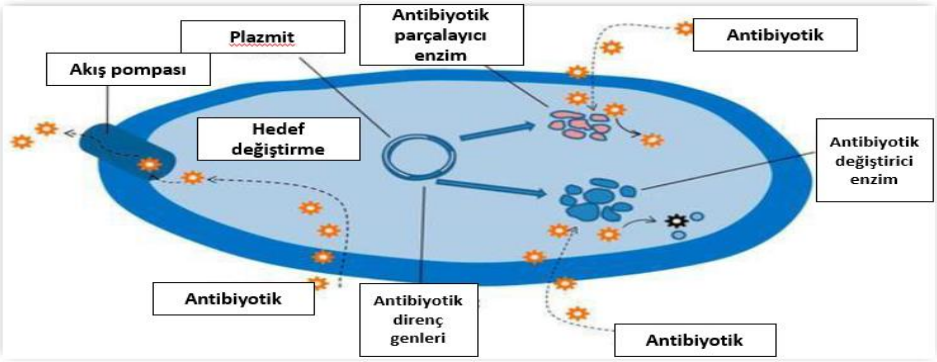
## 2.4 Anti Mikrobiyal Direnç (AMD)

Bir mikrobiyal suş, tipik olarak büyümelerini sınırlayan veya durduran ve onları ilaca dirençli hale getiren antibiyotiklere direnç geliştirdiğinde ortaya çıkar. Son yirmi yılda dünya çapında çok sayıda AMD patojen tespit edilmiştir. Multidrug- *Mycobacterium tuberculosis* çok çeşitli ilaçlara dirençlidir (MDR, XDR-MTB) ve metisiline dirençli *Mycobacterium tuberculosis* Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz (GSBL-MTB) üreten organizmalar arasındadır. *K. pneumonia* metisiline duyarlı bir bakteri türüdür (Hamida *et al*. 2020). AMD, bakterilerin doğal mekanizmasının bir parçası olarak ilk antibiyotik olan "penisilin"in keşfedildiği 1940 yılından beri varlığını sürdürmektedir. Antibiyotikler, şüphesiz, bazı bakteri türlerine tolerans sağlayan genlerden milyonlarca yıl önce keşfedilmiştir. AMD, artan finansal baskı, hastanede kalış süresinin uzaması ve hatta ölümcül sonuçlara yol açabilen irrasyonel, aşırı ve kötü niyetli antibiyotik kullanımının

bir sonucu olarak hızla küresel bir sağlık krizi haline gelmektedir (Chandran and Mazumder 2015).

Antibiyotik aşırı kullanımı ve kötüye kullanımı hatta doğru kullanılsa da bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmasına olanak sağlayabilir (Mendelson *et al*. 2016, Mandal and Halder 2018, Piatek *et al*. 2019).

Hücre tarafından antimikrobiyal absorpsiyonu inhibe ederek veya artırarak antibiyotik birikimini önlenmesi, mutasyon veya hedef değişikliği yoluyla antibakteriyel ilginin azaltıldığı subjektif ilaç hedefi değişikliği, enzimlerle antibiyotikleri bozma veya değiştirme yoluyla etkisiz hale getirilmesi antibiyotik direncinin mekanizmalarından bazılarıdır. Bakteriyel direnç mekanizmaları Şekil 2.3'de gösterilmektedir.




**Şekil 2.3** Bakteri direnci mekanizması (Wright 2005)

β-laktam antibiyotikleri; penisilinler, monobaktamlar, karbapenemler ve β-laktam halkası olmak üzere dört ana sınıftan oluşmaktadır. En son eklenen bu halka ilaç etkisi bakımından çok önemlidir. Beta-laktamlar olarak bilinen antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonlar için en yaygın kullanılan ilaçlardır. Penisilin bağlayıcı proteinler PBP'lere bağlanarak peptidoglikan oluşumunu engeller. PBP inhibisyonu, bakteri hücre duvarını zayıflatır, hücre gelişimini engelleyerek hücre ölümüne yol açar (Shi *et al*. 2019).

B-laktamazlar, bakterilere geniş spektrumlu direnç kazandırırlar ve 1980'lerin ortalarında yeni GSBL aileleri belirlenmiştir. GSBL üreten bakteriler, akut bakım hastanelerinde yaygın halde bulunmaktadır (Rotondo and Wright 2017). β-laktamazların amino asit

içeriği normal koşullar altında *TEM-1, TEM*-2 veya *SHV*-1 genlerinden üretilir. Bu enzimler daha geniş bir beta-laktam antibiyotik grubunu parçalayabilir. GSBL'ler tipik olarak GSBL üretebilen bir plazmit ile kodlanır ve diğer ilaç türlerine (örneğin aminoglikozitler) karşı direnç kodlayan genleri içerirler. GSBL üreten organizmaları tedavi etmenin önemi çok büyüktür (Spadafino *et al*. 2014).

*TEM* β-laktamaz enzimlerin en çok sayıda ve yaygın olarak dağılmış kategorisidir. *TEM-1 ve TEM*-2 evrimsel açıdan GSBL'lerden daha önce keşfedilmiştir. *TEM* β-laktamaz ilk olarak 1960 yılında Yunanistan'da Temoniera adlı bir bayandan izole edilen gram negatif bakterilerde plazmit aracılı bir enzim olarak bulunmuştur. Penisilin ve sefalosporin direnci *TEM* tarafından sağlanır (Sharma *et al*. 2010).

*SHV* β-laktamaz *TEM* β-laktamazların keşfedilmesinden hemen sonra değişken sülfhidril reaktif beta laktamazlar keşfedilmiştir. Pit-2 olarak da bilinen *SHV*-1, ilk olarak 1972'de keşfedilmiştir. *SHV* geni, *K. pneumoniae* izolatlarında yaygın bir plazmit aracısı olan beta-laktamaz olarak bulunur (Drawz and Bonomo 2010). SHV-1 -laktamaz, *SHV*-1'e önemli düzeyde direnç kazandıran, plazmitle kodlanmış bir beta-laktamazdır. *Enterobacteriaceae*'de *SHV*-laktamazlar en sık görülenlerdir (Pfaller and Segreti 2006). İlk olarak *K. pneumoniae'*nin klinik izolatlarında keşfedilmiştir ve ayrıca sülfidril hidrolizli sefalosporin ilaçları için genellikle tercih edilir (Li *et al*. 2009).

*CTX-M* β-laktamazlar *CTX-M* β-laktamazlar 1980'lerin sonlarında bulunmuştur (Peerayeh *et al*. 2014). *CTX-M* ailesi, diğer GSBL tiplerinden farklı olarak, çeşitli ve birbirine benzemeyen bir dizi enzimden oluşur. *CTX-M* varyasyonları orijinal olarak *CTX* amino asit dizisi hizalaması üzerine kurulmuş beş kümeden (*CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25*) oluşur. (Abbassi *et al.* 2008)'nin yapmış oldukları filogenetik çalışmaya göre, *Escherichia coli* ile yakından ilişkili bakterilerden -laktamaz genlerinin bitmiş kromozomal mobilizasyonunu geliştirerek bla genlerinin mobil genetik yapılarına dahil edildiğini ve daha sonra diğerlerine aktarıldığını bulmuştur. Aktarılabilir plazmitler üzerinde konjugasyon yoluyla *blaCTX-M* genleri sıklıkla bulunur. Gen transferi sadece *K. pneumoniae* izolatlarının değil *CTX-M* enzimi üreten suşların klonal genişlemesi için de katkıda bulunan bir faktördür. Ayrıca İYE'ye neden olan MDR *K.*

*pneumoniae* izolatlarında, *CTX-M* -laktamazın diğer virülans faktörleri ile kombinasyonu enfeksiyonu artırabilir ve tedavi seçeneklerini kısıtlayabilir (Goldar *et al*. 2015).

*AmpC* β-laktamaz Ambler'e göre, sınıf C -laktamaz enzimleri (Bush and Jacoby 2010) grup I'e (sefalosporinler) aittir. Bu enzimler *Enterobacteriaceae*'de, *Serratia marcescens* ve *Citrobacter* spp'de al aracılı *AmpC* B-laktamaz olarak *K. pneumonia* ve *Proteus* spp'de ise plazmid aracılı olarak kodlanabilir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki bir hastanın yara enfeksiyonundan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda plazmid aracılı ampc'nin ilk defa tespit edilmiştir ve tespit edilen genin adı CM-1'dir (Bush and Jacoby 2010).

# 3. MATERYAL VE METOT

## 3.1 Materyal

### 3.1.1 Cihaz ve ekipman

Bu çalışmada kullanılan araç ve gereçler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1** Çalışmada kullanılan cihaz ve ekipmanlar

| Numara | Ekipman | Şirket | Ülke |
|---|---|---|---|
| 1 | Otoklav | Monarch MSI | Almanya |
| 2 | Yoğunluk kontrol (OD) | Biomerax | Fransa |
| 3 | Su artıma cihazı | Kottermann | Almanya |
| 4 | Elektroforez | Bioneer | Kore |
| 5 | Santrifüj | Hetich | Almanya |
| 6 | Biyogüvenlik dolabı | ESCO | Almanya |
| 7 | Sıcak plaka karıştırıcı | Sonya | Almanya |
| 8 | İnkübatör | Memmert | Almanya |
| 9 | Mikroskop | Olympus | Japonya |
| 10 | Sterilizatör | Memmert | Almanya |
| 11 | Termal döngüleyici | Invertogen | ABD |
| 12 | Hassas Terazi | Sartorius | Almanya |
| 13 | Hassas elektron dengesi | KERN | Almanya |
| 14 | UV transillüminatör | Wised | Kore |
| 15 | Vitek 2 sistemi | ID card and AST | ABD |
| 16 | Vorteks | CYNA | Belçika |
| 17 | Su banyosu | Memmert | Almanya |
| 18 | Soğutuculu Santrifüj | Hetich | Almanya |
| 19 | Elektroforez Güç Kaynağı | BioRad | ABD |
| 20 | Kamera | Nikon | Japonya |
| 21 | Mikrosantrifüj | P-ABC | ABD |

### 3.1.2 Kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

**Çizelge 3.2** Çalışmada kullanılan kimyasallar

| Numara | Kimyasal | Şirket | Ülke |
|---|---|---|---|
| 1 | Mutlak etanol | Scharlau | İspanya |
| 2 | Agaroz jel | Promega | ABD |
| 3 | Etidyum bromür | Promega | ABD |
| 4 | Etilen–diamin–tetra-asetik asit EDTA | BDH | Birleşik Krallık |
| 5 | Gliserol ($C_3H_8O_3$) | Fluka | İngiltere |
| 6 | Gram boyama. | Himedia | Hindistan |
| 7 | Hidrojen peroksit ($H_2O_2$) | Fluka | Almanya |
| 8 | Kovacs reaktifi | Himedia | Hindistan |
| 9 | Metil kırmızısı | BDH | Birleşik Krallık |
| 10 | Nükleaz içermeyen su | Promega | ABD |
| 11 | Potasyum hidroksit (KOH) | Oxoid | Birleşik Krallık |
| 12 | Sodyum hidroksit (NaOH) | BDH | Birleşik Krallık |
| 13 | Tris-baz | Fluka | Almanya |

### 3.1.3 Kültür ortamları

Çalışmada kullanılan tüm kültür ortamları hazır olarak üretici protokolüne göre hazırlanmıştır. Sterilizasyon otoklavda 121°C'de ve 1,5 bar basınçta 15 dakika süre ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan kültür ortamları Çizelge 3.3'de verilmiştir.

**Çizelge 3.3** Çalışmada kullanılan kültür ortamları

| Numara | Kültür Ortamları | Şirket | Ülke |
|---|---|---|---|
| 1 | Kan bazlı Agar | Oxoid | ABD |
| 2 | Beyin Kalp İnfüzyon Agar | Oxoid | ABD |
| 3 | Beyin Kalp İnfüzyon Suyu | Oxoid | ABD |
| 4 | Kliglar Demir Ağar | Oxoid | ABD |
| 5 | MacConkey Ağar | Mast | Birleşik Krallık |
| 6 | Mueller-Hinton Agar | Oxoid | ABD |
| 7 | Besin Agar | Himedia | Hindistan |
| 8 | Besin suyu | Oxoid | ABD |
| 9 | Simmon's Citrate Agar | Mast | Birleşik Krallık |
| 10 | Pepton suyu | Himedia | Hindistan |
| 11 | MR-VP suyu | Oxoid | ABD |
| 12 | Üçlü Şekerli Demir Agar (TSI) | Himedia | Hindistan |
| 13 | Mannitol tuzlu agar | Himedia | Hindistan |

### 3.1.4 Ticari Kitler

Çalışmada kullanılan kitler Çizelge 3.4'te verilmiştir.

**Çizelge 3.4** Çalışmada kullanılan kitler

| Numara | Kit | Şirket | Ülke |
|---|---|---|---|
| 1 | Gram boya | Sybio | Suriye |
| 2 | Presto™ Mini gDNA Bakteri Kiti | Geneaid | Tayvan |
| 3 | PZR için Go Tag Green Master karışımı | Promega | ABD |

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Örneklerin Toplanması

Eylül 2021- Şubat 2022 tarihleri arasında Güney Irak bulunan Dhi Qar şehrindeki özel laboratuvarlar ve Al-Rifai Hastane'sinde idrar yolu enfeksiyonuna (İYE) sahip olan 320 adet gebe kadından idrar örneği alınmıştır. Hastaların yaşları 18 ile 47 arasında değişmektedir. Örnekleme yapılacak kişilerin en az 4-5 gündür antibiyotik kullanmamış olmasına dikkat edilmiştir. Orta akım idrar örnekleri, steril vidalı kapaklı bir kaplarda toplanmıştır. Aynı zamanda örnek alınan kişilerden isim, soy isim, yaş, adres, doğum sayısı ve hamilelik ayı gibi çeşitli bilgiler alınmıştır.

### 3.2.2 Makroskopik ve mikroskobik inceleme

Makroskopik incelemelerde idrar örneğinin rengi, kokusu ve klirensi gözlemlendi. Mikroskobik incelemeler için öncelikle idrar örnekleri santrifüjlendi. Kalıntılar, irin hücrelerinin, epitel hücrelerinin, kırmızı kan hücrelerinin, bakteri hücrelerinin ve diğer maddelerin varlığını tespit etmek için mikroskopla incelendi. Daha sonra MacConkey agar, Kanlı agar ve mannitol tuzu agara 0,01 mL santrifüjlenmemiş idrar örneği ekimi yapıldı. Besi yerleri 24 saat boyunca 37°C'de aerobik olarak inkübe edildi. Süre sonunda

morfolojik özellikleri (Koloni boyutu, formu, pigmentlerin gölgesi ve doğası, laktoz fermantasyonu, yarı saydamlık, yükseklik ve doku) incelendi (MacFaddin 2003).

### 3.2.3 Gram boyama

Serum fizyolojik lam üzerine damlatılır ve kültürde öze ile koloni alınarak SF ile karıştırılarak yayılır ve kuruması beklenir. Daha sonra gram boyama ile bakteriler mikroskop altında incelenir (Brooks *et al.* 2007).

## 3.3 Besiyerlerinin Hazırlanması

### 3.3.1 Kanlı agar

Kanlı agar, çok sayıda zor üreyen bakteri türünün üremesi ve izolasyonu için kullanılır. Aynı zamanda hemolitik karakterlerine göre bakterileri ayırt etmek için çok yararlıdır. 40 gr ortam 1 L distile su (DS) içinde çözülür ve tamamen eritmek için ortam ısıtılır. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklav yapılarak sterilizasyon sağlanır. Saflaştırmadan sonra ortam 45°C'ye soğutulur ve %5 insan kanı ilave edilir. Ardından ortam steril petri kaplarına dökülür ve katılaşana kadar bekletilir. Herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığının tespiti için 24 saat boyunca 37ºC'de inkübatörde inkübe edilen ortam, bazı büyüme gereksinimleri zor olan bakteri türlerini kültürü için kullanılmıştır.

### 3.3.2 MacConkey agar

Bu besiyeri, laktozu fermente eden veya fermente etmeyen bakterileri izole etmek ve ayırt etmek için kullanılır. 51,5 gr. toz besiyeri 1 L DS içinde çözülür ve besiyerini tamamen eritmek için ısıtılır, ardından 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlanarak sterilize edilir. Daha sonra 55ºC'ye soğutulan ortam petri kaplarına dökülerek katılaşana kadar bekletilir. Ortam herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığının tespiti için 24 saat boyunca 37ºC'de inkübatörde inkübe edilir. Hazırlanan bu ortam Gram negatif bakterilerin birincil izolasyonu ve laktoz fermenterlerini laktoz olmayan fermenterlerden ayırmak için kullanılmıştır (Baron *et al*. 1992).

### 3.3.3 Müller hinton agarı

Bu besiyeri 38 gr/L DS içinde olacak şekilde MacConkey agar besiyeri gibi hazırlanmıştır. Hazırlanan ortam Anti-bakteriyel direnç/duyarlılık testlerinde kullanılmıştır (MacFaddin 2003).

### 3.3.4 Beyin kalp infüzyon suyu

Bu besiyeri, 38 gr/L DS içinde besiyerinin çözülüp tamamen eriyene kadar ısıtılması ile hazırlanır. Hazırlanan ortam bakterileri aktive etmek, büyütmek ve stok kültür olarak izole etmek için kullanılır (MacFaddin 2003).

### 3.3.5 Mannitol tuzlu agar (MSA)

Ortam, 111gr/L DS içinde çözülmesiyle hazırlanır. Daha sonra tam çözünme için kaynatılan ortam ile 121°C'de 15 dakika sterilizasyon için otoklavlanır, ardından 45°C'ye soğutularak petri kaplarına dökülür.

## 3.4 Biyokimyasal Testler

### 3.4.1 İndol üretim testi

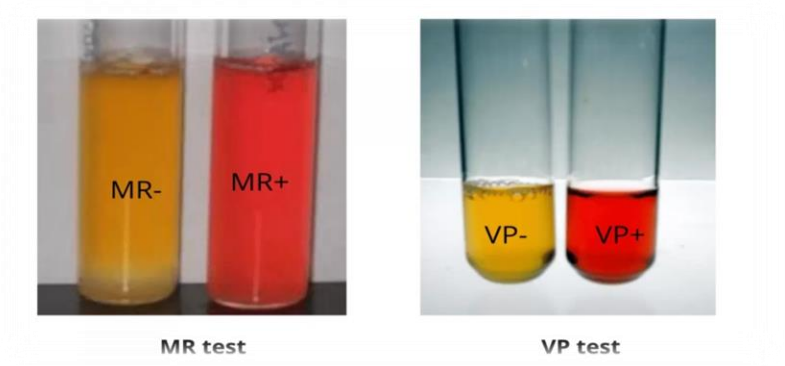
Pepton broth test edilecek izolatlarla aşılanır ve 37°C'de 24 saat inkübe edilir. Ardından birkaç damla Kovac reaktifi eklenerek hafifçe karıştırılır. Kırmızı veya pembe bir halkanın oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilir.

### 3.4.2 Metil kırmızı testi

Metil kırmızısı-Voges Proskauer suyu taze bir bakteri kültürü ile aşılanıp 37 saat boyunca 24°C'de inkübe edildi. Birkaç damla metil kırmızısı çözeltisi eklenip karıştırıldıktan sonra elde edilen parlak kırmızı renk sonucun pozitif olduğunu gösterdi.

### 3.4.3 Voges-proskauer testi

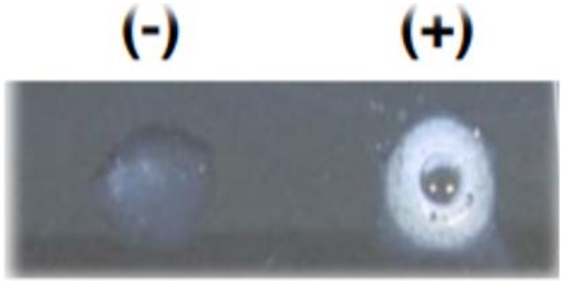
Metil kırmızısı-Voges Proskauer suyu taze bir bakteri kültürü ile aşılanıp 37 saat boyunca 24°C'de inkübe edildi. Her tüpe 10 damla %40 KOH solüsyonu ve 10 damla %5 α-naftol solüsyonu eklendi. Daha sonra 2 veya 5 dakika içinde pembe bir renk oluşması sonucun pozitif olduğunun göstergesi olarak kabul edildi. Voges-proskauer ve metil kırmızı test pozitif ve negatif sonuç görüntüleri Şekil 3.1'de verilmiştir.




**Şekil 3.1** Voges-proskauer testi ve metil kırmızı testi

### 3.4.4 Katalaz testi

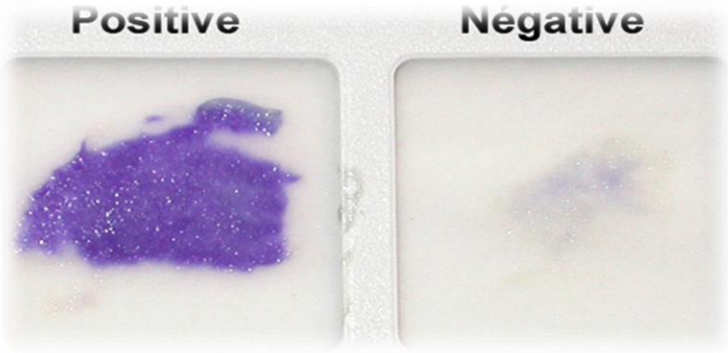
Tek bir koloni yayılarak yapılır, kabarcıkların ($O_2$) oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilir. Katalaz testi pozitif ve negatif sonuç görüntüleri Şekil 3.2'de verilmiştir.




**Şekil 3.2** Katalaz testi

### 3.4.5 Oksidaz testi

Bir filtre kâğıdı diski, oksidaz reaktifi ile ıslatılır ve %1 Tetrametil p-fenilen -diamin dihidroklorür çözeltisi eklendikten sonra filtre kağıdının üzerine tek bir koloni yayılır. 2-10 saniye boyunca beklendikten sonra koloninin renginin koyu mora dönüşmesi sonucun pozitif olması olarak kaydedilir. Oksidaz testi pozitif ve negatif sonuç görüntüleri Şekil 3.3'de verilmiştir.




**Şekil 3.3** Oksidaz testi; **a**. Pozitif sonuç **b.** Negatif sonuç (Holt *et al.* 1994)

## 3.5 Bakteriyel İzolatların Saklanması

Bakteriyel izolatlar MacConkey agar slaytları üzerine saf bakteri izolatı kolonisi olacak şekilde ekilir ve 37°C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra buzdolabında 4-30°C'de 45 gün süreyle saklanır. Beş saf ve taze koloni, %15 gliserol içeren buyyon içine ekildikten sonra -10 ile -15°C'de 12-18 ay süreyle saklanır.

## 3.6 VITEK®2 Kompakt Sistemi ile Bakteri Tanımlama

Bu sistem, kart kaseti, kart doldurma mekanizması, kaset yükleme işleme mekanizması, kart mühürleyici, barkod okuyucu, kaset karuseli ve inkübatör dahil olmak üzere birden fazla dahili bileşenden oluşan bir sistemdir. Sistem, mikrobiyal teşhiste gelişmiş bir verimlilik sağlayan tüm rutin tanımlama testleri için genişlemiş bir tanımlama veri tabanı ile donatılmıştır. Bu nedenle, herhangi bir ek test yapmaya gerek yoktur ve güvenilirliği

yüksektir. Bu çalışmada Gram pozitif bakteri türleri için 43 substrattan oluşan GP kartı kullanılmıştır. Steril koşullarda, McFarland 0,5 OD konsantrasyonda bakteri süspansiyonları hazırlanarak kasete yerleştirilmiştir. Daha sonra teşhis kaseti 5-10 saat içinde oluşacak sonucun görüntülenmesi için sisteme yerleştirilerek tüm adımlar üreticinin talimatlarına göre hazırlanmıştır. Üç mL serum fizyolojik içeren tüpe izole edilmiş kolonilerden öze ile ekim yapıldı. McFarland çözeltisi ile koloni standardizasyonu yapıldı. Standartlaştırılmış inokulum kasete yerleştirildi ve PC yazılım programına barkod aracılığıyla örneğin kimliği tanımlandı. VITEK-2 sistemine yerleştirilen kasetten elde edilen sonuçlar barkoddan okunup numune ile ilgili sonuçlar elde edildi.

## 3.7 VITEK-2 Sistemi ile Antibiyotik Duyarlılık Testi

Bu çalışmada izole edilen bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları, VITEK-2 sistem kullanım duyarlılık kartları (Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere özgü AST-etiketi) ile belirlenmiştir. Bu kartlar, bir AST (Antibiyotik Duyarlılık Testi) tüpündeki bakteri süspansiyonundan doldurulduktan sonra kapatılarak VITEK 2 inkübasyon ve okuma kitine yüklenir (Şekil 3.4).



**Şekil 3.4** VITEK-2 sistemi ile bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testi

## 3.8 Moleküler Çalışma

### 3.8.1 Kimyasallar ve primerler

Bu çalışmada kullanılan PZR kimyasalları Çizelge 3.5'te verilmiştir.

**Çizelge 3.5** Çalışmada kullanılan PZR kimyasalları

| No | Kit | Şirket | Ülke |
|---|---|---|---|
| 1 | Presto™ Mini gDNA Bakteri Kiti | Geneaid | Tayvan |
| | GT parçalama solüsyonu | | |
| | GB bağlama solüsyonu | | |
| | Proteinaz K | | |
| | W1 solüsyonu | | |
| | Yıkama tamponu | | |
| | Elüsyon solüsyonu | | |
| | GD sütunu | | |
| | Toplama tüpü 2 mL | | |
| 2 | GoTaq® Yeşil PZR ana Karışımı | Promega | ABD |
| | Taq DNA polimeraz | | |
| | dNTP'ler (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) | | |
| | Tris-HCl pH 9,0, KCl ve $MgCl_2$ | | |
| | Stabilizatör ve yükleme boyası | | |

Moleküler çalışma için kullanılacak olan kimyasallar ve çözücüler Çizelge 3.6'da verilmiştir.

**Çizelge 3.6** Çalışmada kullanılan moleküler kimyasallar ve çözücüler

| No | Kimyasal adı | Şirket | Ülke |
|---|---|---|---|
| 1 | Mutlak etanol | Chem-Lab | Belçika |
| 2 | DNA Marker 2000-100 bp | Bio neer | Kore |
| 3 | Etidyum bromür | Bio Basic | Kanada |
| 4 | TBE solüsyonu | iNtRON | Kore |
| 5 | Agaroz | iNtRON | Kore |
| 6 | Nükleazsız steril su | Bio Labs | Birleşik Krallık |

Bu çalışmada 16S ribozomal RNA geni ve beta-laktam antibiyotik direnç genleri için PZR primerleri NCBI GenBank veri tabanı ve primer three plus kullanılarak tasarlanmıştır. Bu primers Kore'deki Bioneer Corporation tarafından sağlanmıştır ve Çizelge 3.7 ile Çizelge 3.8'de verilmiştir.

**Çizelge 3.7** 16S ribozomal RNA geni PZR primerleri

| **Primer** | **Sıra (5'-3')** | | **Ürün boyutu** | **Genbank kodu** |
|---|---|---|---|---|
| *16S rRNA geni Escherichia coli* | F | TGGTAGTCCACGCCGTAAAC | 455bp | LC682250,1 |
| | R | CGCTTCTCTTTGTATGCGCC | | |
| *16S rRNA geni Klebsiella pneumoniae* | F | CCTGGACAAAGACTGACGCT | 584bp | LC557135,3 |
| | R | AGTTGCAGACTCCAATCCGG | | |
| *16S rRNA geni Staphylococcus aureus* | F | TCAACCGTGGAGGGTCATTG | 474bp | LN794238,1 |
| | R | CCCAACATCTCACGACACGA | | |
| *16S rRNA geni Proteus mirabilis* | F | CTCCTTTGAGTTCCCGCCCAT | 366bp | FN650811,1 |
| | R | ATACCCTGGTAGTCCACGCT | | |
| *16S rRNA geni Pseudomonas aeruginosa* | F | TCAACCTGGGAACTGCATCC | 698bp | LN874213,1 |
| | R | CAGACTGCGATCCGGACTAC | | |

**Çizelge 3.8** Beta laktam antibiyotik direnç genleri

| **Primer** | **Sıra (5'-3')** | | **Ürün boyutu** | **Genbank kodu** |
|---|---|---|---|---|
| *BlaCTX-M* | F | AGCGATAACGTGGCGATGAA | 247bp | OM326869,1 |
| | R | TCATCCATGTCACCAGCTGC | | |
| *BlaSHV* | F | CCGCCATTACCATGAGCGAT | 410bp | OL906381,1 |
| | R | AATCACCACAATGCGCTCTG | | |
| *BlaTEM* | F | GGTGCACGAGTGGGTTACAT | 531bp | ON221404,1 |
| | R | TGCAACTTTATCCGCCTCCA | | |
| *BlaAMPC* | F | AAACGACGCTCTGCACCTTA | 670bp | LC455576,1 |
| | R | TGTACTGCCTTACCTTCGCG | | |
| *mecA* | F | ACCTCTGCTCAACAAGTTCCA | 683bp | KC243783,1 |
| | R | ACCACCCAATTTGTCTGCCCA | | |

### 3.8.2 Bakteriyel DNA ekstraksiyonu

Bakteriyel genomik DNA, Presto™ Mini gDNA bakteri kiti kullanılarak ve aşağıda belirtilen adımlar uygulanarak elde edilmiştir.

**Örnek hazırlama:** 1 mL inkübe edilmiş kültürlenmiş bakteri hücreleri (1 x $10^9$'a kadar) 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı, ardından 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi ve süpernatant atıldı.

**Hücre lizizi:** Tüpe 180 µL GT tamponu eklendi ve hücre peleti vorteks ile süspanse edildi, ardından gram pozitif bakteriler için 100 µL lizozim eklendi ve karışımlar 60ºC'de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon periyotları sırasında karışım tüpleri her 3 dakikada bir ters çevrildi. Ardından tüpe 200 µL GB tampon eklendi ve 10 saniye vorteksle karıştırıldı. Daha sonra tüpler inkübasyon periyotları boyunca her 3 dakikada bir ters çevrilerek 60ºC'de 10 dakika inkübe edildi.

**DNA bağlama:** 200 µL mutlak etanol eklendi ve vorteks ile karıştırıldı. Ardından 2 mL'lik bir toplama tüpüne GD kolonu yerleştirildi ve tüm karışımlar (çökelti dahil) GD kolonuna aktarıldı. Daha sonra 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Akışı içeren 2 mL'lik toplama tüpleri atıldı ve GD kolonu 2 mL'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.

**Yıkama:** GD kolonuna 400 µL W1 tamponu eklendi, ardından 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi. Akış atıldı ve GD kolonu 2 mL'lik toplama tüpüne geri yerleştirildi. Ardından tekrar 600 µL Yıkama Tamponu GD kolonuna eklendi. Daha sonra 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Akış atıldı ve GD kolonu 2 mL'lik toplama tüpüne geri yerleştirildi. Tüplerdeki kolon matrisini kurutmak için tekrar 2 dakika 12,000 rpm'de santrifüjleme işlemi yapıldı.

**Elüsyon:** Kurutulmuş GD kolonu, temiz bir 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve kolon matrisinin merkezine 100 µL önceden ısıtılmış elüsyon tamponu ilave edildi. Elüsyon tamponunun matris tarafından emildiğinden emin olmak için tüpler en az 3 dakika bekletildi. Daha sonra saflaştırılmış DNA'yı ayrıştırmak için 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi.

### 3.8.3 DNA miktarının belirlenmesi

Elde edilen DNA, Nanodrop (Thermo Scientific Nanodrop Lite UV Görünür Spektrofotometre) kullanılarak (Şekil 3.5) kontrol edildi ve sonra 260/280 nm absorbanstaki DNA saflığı aşağıda belirtildiği şekilde kontrol edildi;

- Nanodrop yazılımı açıldıktan sonra uygun uygulama seçilir (Nükleik asit, DNA).
- Kuru bir bez ile ölçüm kaideleri birkaç kez temizlendi. Daha sonra 2 µL serbest nükleaz suyu dikkatlice pipetlenerek sistemi boşaltmak için alt ölçüm kaidelerinin yüzeyine yerleştirildi.
- Nanodrop örnekleme kolu indirildi ve 1 µL DNA örneği ölçüldü.




**Şekil 3.5** Thermo scientific nanodrop Lite UV görünür spektrofotometre

### 3.8.4 İzolatların tanımlanması ve direnç genlerin varlığının belirlenmesi için PZR karışımı

İzolatların tanımlanması için PZR ana karışımı tüm 16SrRNA genler için GoTaq ®Green PZR ana kiti kullanılarak hazırlandı. Daha sonra tüm PZR tüpleri 3,000 rpm'de 3 dakika Exispin vorteks santrifüjüne aktarıldı ve ardından T100 PZR Thermocycler (BioRad-USA) içerisine yerleştirildi. Antibiyotik direnc genleri multipleks PZR kullanılarak

arastırıldı. PZR ve multipleks PZR ana karışımları Çizelge 3.9' belirtildiği şekilde hazırlandı.

**Çizelge 3.9** PZR ve multipleks PZR karışımı

| İzolatların tanımlanması için PZR karışımı | | Direnç genlerinin tanımlanması Multipleks PZR karışımı | |
|---|---|---|---|
| **PZR Ana karışımı** | **Hacim** | **PZR Ana karışımı** | **Hacim** |
| DNA şablonu 5-50ng | 5 µL | DNA şablonu 5-50ng | 5 µL |
| İleri primer (10pmol) | 2 µL | İleri primer (10pmol) | 8 µL |
| Geri primer (10pmol) | 2 µL | Geri primer (10pmol) | 8 µL |
| GoTaq ®Green PZR | 12,5 µL | GoTaq ®Green PZR | 25 µL |
| PZR suyu | 3,5 µL | PZR suyu | 4 µL |
| Toplam hacim | 25 µL | Toplam hacim | 50 µL |

### 3.8.5 PZR termal döngü cihaz koşulları

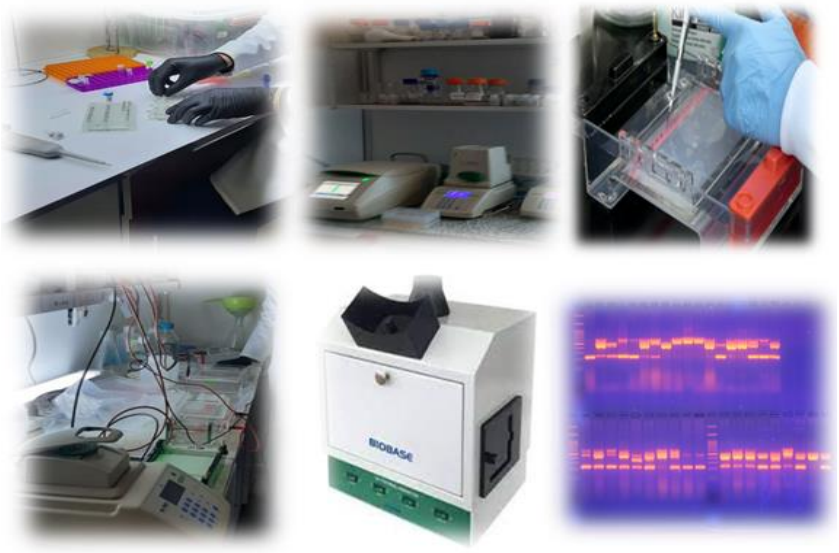
Her bir gen için PZR termocycler koşulları protokolü, Optimase ProtocolWriter™ on line yardımcı programı kullanılarak hesaplandı ve PZR thermocycler kullanılarak tamamlandı. PZR ve multipleks PZR termal döngü cihaz programı Çizelge 3.10'da verilmiştir.

**Çizelge 3.10** PZR ve multipleks PZR termal döngü cihaz programı

| PZR ve Multipleks PZR termal döngü cihaz programı | | | |
|---|---|---|---|
| **PZR adımı** | **Sıcaklık** | **Zaman** | **Döngü** |
| İlk denatürasyon | 95 °C | 5 dakika | 1 |
| Denatürasyon | 95°C | 30 saniye | 35 döngü |
| Bağlanma | 58°C | 30 saniye | |
| Uzama | 72°C | 1 dakika | |
| Son uzatma | 72°C | 5 dakika | 1 |
| | 4°C | Durmak | - |

### 3.8.6 PZR ürün analizi

PZR ürünleri, agaroz jel elektroforez yöntemiyle analiz edildi. %1,5 agaroz jel, 0,5X TBE kullanılarak ve mikrodalgada 5 dakika eritilerek hazırlandı ve 50°C'de soğumaya bırakıldı. Agaroz jel solüsyonuna 3 µL etidyum bromür eklendi. Tepsi sabitlendikten sonra agaroz jel solüsyonu döküldü ve oda sıcaklığında 15 dakika katılaşmaya bırakıldı, ardından tarak tepsiden yavaşça çıkarıldı. Jel tepsisi elektroforez haznesine sabitlendi ve 0,5X TBE tamponu ile dolduruldu. 5-10 µL PZR ürünü, ilk göze 5 µL (DNA markörü) eklenerek her bir oyuğa yüklendi. Daha sonra 100 volt ve 80 AM'de 1 saat elektrik akımı uygulandı. PZR ürünleri UV Transilluminator kullanılarak görselleştirildi. 8 PZR çalışmalarından bazı görüntüler Şekil 3.6'de verilmiştir.



**Şekil 3.6** PZR çalışmalarından bazı görüntüler

## 3.9 *mecA* ve *blaCTX-M* Direnç Genlerinin Sekans ve Filogenetik Analizi

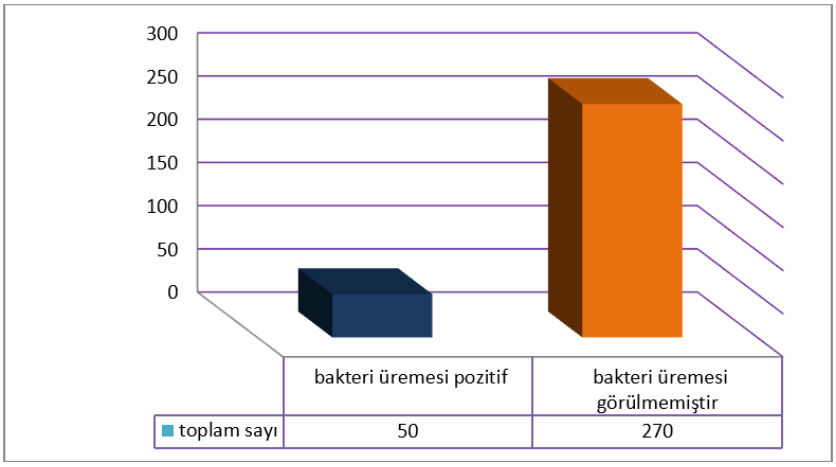
Bu çalışmada, direnç geni *mecA* geninin dizi analizi amacıyla gebelerde idrar yolu enfeksiyonu tanısı konulan ve izole edilen bir bakteri *Staphylococcus aureus* izolatı ve *direnç geni blaCTX-M* genin dizi analizi için *Escherichia coli, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarından birer tanesinin DNA ürünleri, DNA dizilemesinin yapılması için Kore'ye gönderilmiştir. Genetik analizör 3500

cihazı kullanılmıştır, cihaz örneklerdeki DNA dizisini belirlemek için Sanger teknolojisini kullanılmıştır. Daha sonra sonuçlar, çalışma genlerindeki genetik mutasyonların sayısını ve türünü belirlemek için Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nde (NCBI) bulunan Temel Yerel Hizalama Arama Aracı'na (BLAST) göre okunmuştur. M ve filogenetik ağaç (MEGA sürüm 6.0'da), bu çalışmada elde edilen izolat türleri ile standart izolatlar arasındaki genetik değişiklikleri göstermek için Aritmetik Ortalamalı Ağırlıksız Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur.

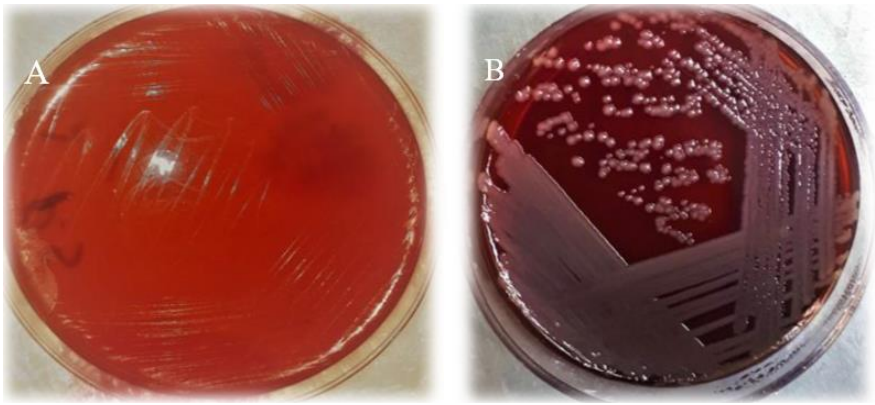
# 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

## 4.1 Bakteri İzolasyonu

Bu çalışma Eylül 2021- Şubat 2022 tarihleri arasında Güney Irak bulunan Dhi Qar şehrindeki özel laboratuvarlar ve Al-Rifai Hastane'sinde yürütülmüştür. Bu çalışmada. İdrar yolu enfeksiyonuna (İYE) sahip olan 320 adet gebe kadından idrar örneği alınmıştır. Örnekleme yapılacak kişilerin en az 4-5 gündür antibiyotik kullanmamış olmasına dikkat edilmiştir. Hastaların yaşları 18 ile 47 arasında değişmektedir. 320 idrar numunesinden 50 (%15,6)'sinde bakteri üremesi pozitif iken 270 (%84,4) örnekte bakteri üremesi görülmemiştir (Şekil 4.1) (Şekil 4.2).




**Şekil 4.1** İdrar örneklerinin kültür sonuçları




**Şekil 4.2** Örneklerin besi yerine ekimi ve inkübasyon sonrası görüntüsü, **(A)** Besi yerinde üreme göstermedi **(B)** Besi yerinde üreme gösterdi

Bakteri izolasyon sonuçları değerlendirildiğinde farklı araştırmacılar tarafından yapılan benzer çalışmalarla uyumlu sonuçlar bulunduğu gözlemlenmiştir. Buna göre, Biset vd. (2020) tarafından Kuzeybatı Etiyopya'da hamile kadınlar üzerinde yapılan çalışmada toplam 384 örneğin 61 (%15,9) pozitif bakteri üremesi tespit edilirken 323 (%84,1) örnekte üreme olmamıştır. Aynı şekilde Belete (2020) tarafından aynı bölgede yapılan farklı bir çalışmada 323 hamile kadın idrar örneğinde pozitif bakteri üreme oranı %15,5 (50) negatif bakteri üreme oranı ise %84,5 (273) olarak tespit edilmiştir. Bunlara ilaveten, Edrees ve Anbar (2020) tarafından Yemen Sana'da 100 hamile kadın üzerinde yaptıkları çalışmada pozitif bakteri üreme oranı %18 (18) negatif bakteri üreme oranı %82 (82), Lhwak ve Abbas (2018) Irak'ın Thi Qar Eyaleti'ndeki çalışmada ise 630 hamile kadında pozitif bakteri üreme oranı %14,3 (90) ve negatif bakteri üreme oranı %85,7 (540) olarak bulunmuştur.

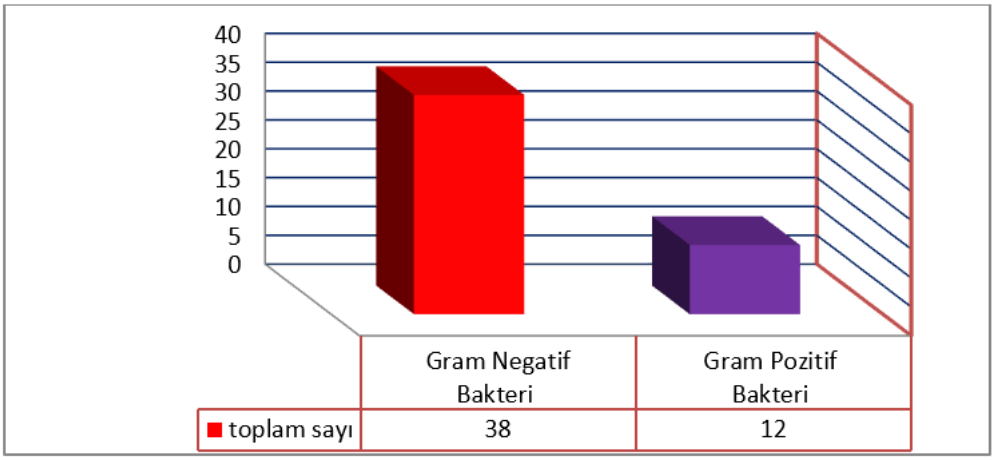
Bu konu üzerinde yapılan diğer bazı çalışmalarda ise sonuçların farklı olduğu ortaya çıkmıştır. Buna göre, Asmat vd. (2021) tarafından Pakistan'ın Lahor kentinde toplam 80 hamile kadında yapılan çalışmada pozitif bakteri üreme oranı %81,25 (65) ve negatif bakteri üreme oranı %18,75 (15), Al-Hashmay vd. (2021) tarafından Irak'ın Thi-Qar ilinde 150 hamile kadında pozitif bakteri üreme oranı %58 (84) ve negatif bakteri üreme oranı %42 (66), Simon-Oke vd. (2019) tarafından Nijerya, Akure'de, 300 hamile kadında pozitif bakteri üreme oranı %61(183) ve negatif bakteri üreme oranı %39 (117), zamanda El-Kashif (2019) tarafından Suudi Arabistan'da 302 hamile kadında pozitif bakteri üreme oranı olan 302 gebe olan toplam örneğin %53,5(162) ve negatif bakteri üreme oranı %46,5 (140) olarak tespit edilmiştir.

Tüm bu sonuçlar incelendiğinde İYE prevalansının, çevre, toplumun sosyal alışkanlıkları ile kişisel hijyen ve sağlık eğitimi uygulamalarının standartlarında, metodolojilerdeki ve çalışma popülasyonlarındaki farklılıklardan dolayı olabileceği düşünülmektedir.

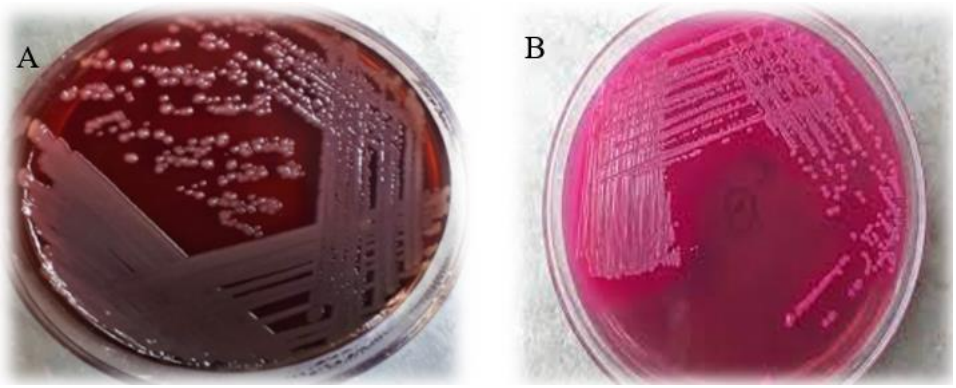
## 4.2 Bakterilerin identifikasyonu

Bu çalışmada gram negatif bakterili gebelerde İYE insidansının gram pozitif bakterilere göre daha fazla olduğu saptanmış ve mikrobiyolojik testler, biyokimyasal testler, Vitek2

tekniği ve PZR tekniği kullanılarak bu sonuç desteklenmiştir. Çalışmamızda elde edilen negatif ve pozitif bakterilerle enfeksiyon oranları Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de verilmiştir.

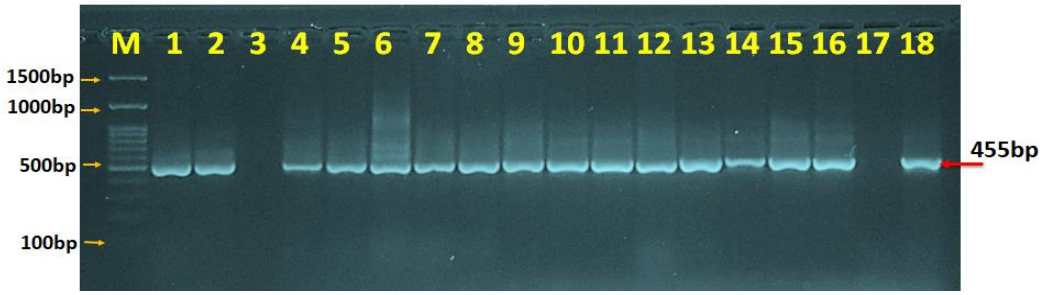



**Şekil 4.3** Pozitif kültürden gram negatif ve pozitif bakteri oranları

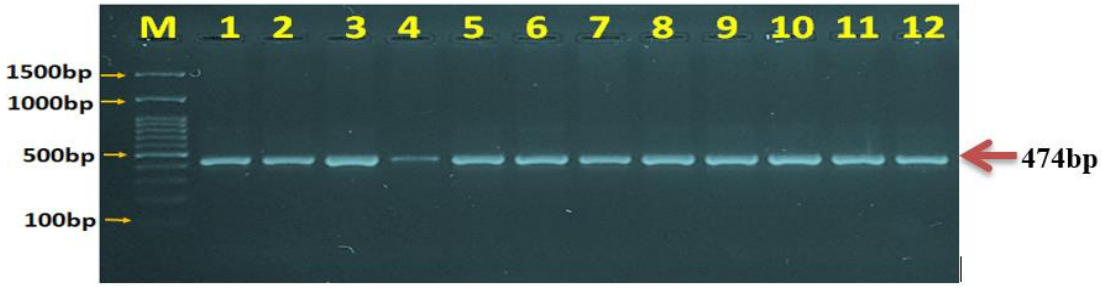



**Şekil 4.4** Kanlı agar **(A)** ve MacConkey agar **(B)** koloni görünümü

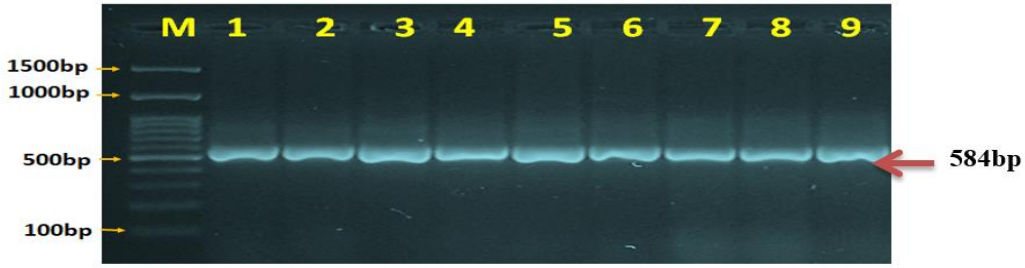
Çalışmamızda, toplam 320 idrar örneğinden 50 (%15,6) örnekte pozitif bakteri üremesi tespit edilmiştir. Bu 50 örneğin 38'inde (%76) gram-negatif bakteriler 12'sinde (%24) ise gram pozitif bakteriler üreme göstermiştir. Çalışmamızda VITEK2 testi ve PZR, hamile kadınlarda İYE'ye neden olan bakteriyel patojenlerin sıklığının tespit etmek için kullanılmıştır. Buna göre; *E. coli* 18 (%36), *Staphylococcus aureus* 12 (%24), *Klebsiella pneumoniae* 9 (%18), *Proteus mirabilis* 6 (%12) ve *Pseudomonas aeruginosa* 5 (%10) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki idrar örneklerinden elde edilen izolatlarda 16S ribozomal RNA geninin PZR jel görüntüleri Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9 ve identifikasyon sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.



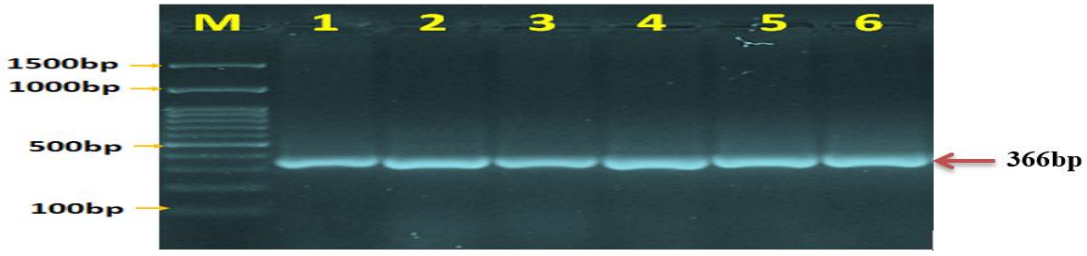

**Şekil 4.5** *Escherichia coli* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni PZR ürünlerinin jel görüntüsü



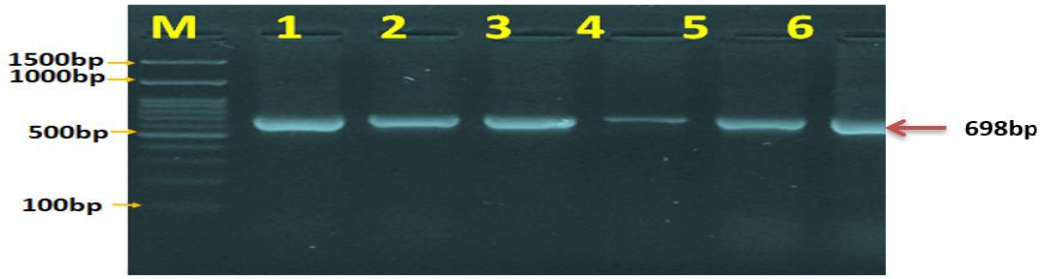

**Şekil 4.6** *Staphylococcus aureus* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni PZR ürünlerinin jel görüntüsü




**Şekil 4.7** *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni PZR ürünlerinin jel görüntüsü




**Şekil 4.8** *Proteus mirabilis* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni PZR ürünlerinin jel görüntüsü




**Şekil 4.9** *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geni PZR ürünlerinin jel görüntüsü

**Çizelge 4.1** İdrar örneğinden mikrobiyal izolasyon

| No | Mikrobiyal izolasyon | No | Yüzde % |
|---|---|---|---|
| 1 | *Escherichia coli* | 18 | 36 |
| 2 | *Staphylococcus aureus* | 12 | 24 |
| 3 | *Klebsiella pneumonia* | 9 | 18 |
| 4 | *Proteus mirabillis* | 6 | 12 |
| 5 | *Pseudomonas aeruginosa* | 5 | 10 |
| Toplam | | 50 | 100 |
| $X^2$ | | 13,75 | |
| Hesaplanan P değeri | | 0,008* | |

*P<0,05'te önemli fark

Toplam 320 idrar örneğinden 50 (%15,6) örnekte pozitif bakteri üremesi tespit edilmiştir. Bu 50 örneğin 38'inde (%76) gram-negatif bakteriler 12'sinde (%24) ise gram pozitif bakteriler büyüme göstermiştir. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar bazı çalışmalarla uyumluluk göstermiştir. Bunlar; Biset vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada toplam 384 örneğin 61'inde (%15,9) pozitif bakteri üremesi tespit edilmiş olup bu 61 örneğin 33'ünde (%54,1) gram-negatif bakteriler 28'inde (%45,1) ise gram pozitif bakteriler büyüme göstermiştir, Al-Hashmay vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada toplam150 örneğin 84'ünde (%58) hamile kadında pozitif bakteri üremesi ortaya çıkmış olup bu 84 örneğin 53'ünde (%63,1) gram-negatif bakteriler 31'inde (%36,9) ise gram pozitif bakteriler büyüme göstermiştir, Bahati vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada toplam 400 örneğin 140'ında hamile kadında pozitif bakteri üremesi ortaya çıkmış olup bu 140 örneğin 107'sinde (%76,4) gram-negatif bakteriler 33'ünde (%23,6) ise gram pozitif bakteriler büyüme göstermiştir, Asmat vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada toplam 80 örneğin 65'inde hamile kadında pozitif bakteri üremesi ortaya çıkmış olup bu 65 örneğin

57’sinde (%87,7) gram-negatif bakteriler 8’inde (%12,3) ise gram pozitif bakteriler büyüme göstermiştir.

Buna ilaveten bazı çalışmaların sonuçları ise bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile farklılık göstermiştir. Örneğin, Al-Wazni ve Hadi (2015) tarafından Irak Kerbela'da yapılan çalışmada 50 örnekte gram pozitif büyüme tespit edilmiştir. Bu 50 örneğin 9’unda (%18) gram-negatif bakteriler 41’inde (%82) ise gram pozitif bakteriler büyüme göstermiştir. Bu durum genel olarak asitlik, ozmotik basınç ve epitel anatomisinin, bu bakterilerin çoğunun bağırsağın normal florasından gelmesi ve hamile kadınlarda idrar yolunu temizleme zorluğundan kaynaklanmaktadır. Böylece Gram negatif bakterilerin enfeksiyonunu kolaylaştırdığı gibi, fırsatçı bakterilerin gelişini ve kolonizasyonunu kolaylaştırarak vajina ve idrar yollarını işgal etmesine, enfeksiyonu mesaneye taşıyarak iltihaplanmaya ve hamilelik sırasında bağışıklık sistemini zayıflatmaya neden olur. Bunları takiben bakteriler vajina ve mesanenin epitel hücrelerine ulaşarak yayılmaya başlar (Barriga *et al*.2014).

İdrar örneklerinden mikrobiyal izolasyon sonuçları incelendiğinde *Escherichia coli*’nin hamile kadınlarda İYE’ye neden olan en izole bakteri olduğunu göstermektedir. Bunu sırasıyla *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumonia, Proteus mirabillis* ve *Pseudomonas aeruginosa* takip etmektedir. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar bazı çalışmalarla uyumluluk göstermiştir. Bunlar; Al-Hashmay vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada *E. coli* (%40) ve *S. aureus*’ta (%25,2), Simon-Oke vd. (2019) tarafından Akure, Nijerya'da hamile kadınlarda yapılan başka bir çalışmada *E. coli* (%32,8), *S. aureus* (%14,8). Biset vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada *E. coli* (%49,2), *S. aureus* ve (%18), Edrees ve Anbar (2020) tarafından yapılan çalışmada *E. coli* (%50), *S. aureus* ve (%27,7) olarak tespit edilmiştir.

Buna ilaveten bazı çalışmaların sonuçları ise bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile farklılık göstermiştir. Örneğin, Al-Wazni ve Hadi (2015) tarafından yapılan çalışmada *E. coli* (%11,5), *S. aureus* ve (%38,5) olarak bulunmuştur.

*Escherichia coli*, bağırsakta normal florada yaşayan bir bakteri türüdür. Enfeksiyon genellikle rektum yoluyla bulaşır. Ellerin kontaminasyonu ya da kadınların anatomik genital tabakası ve vücudun yakınlığı nedeniyle idrar yolu enfeksiyonlarının yaygın bir şekilde görülür. Vajina ve üretranın rektuma kadar olan alanı, mesaneye yükselmesine, sistite, böbreğe hareket ettiğinde akut nefrite ve güçlü virülans faktörlerine, özellikle enzimlere ve tutunma faktörlerine sahip olmasına neden olabilir. Konakçının mekanik savunmasını önlemesine yardımcı olan faktörler arasında yer alan patojenitesinin şiddetini arttırmak, akut enfeksiyonlara ve İYE gelişiminden sorumlu olabilecek enflamatuar tepkiye yol açabilir (Abass *et al*. 2018).

2008 yılında Saffar ve (2008) tarafından *S. epidermis* idrar yolu enfeksiyonlarına neden olmada ikinci sırada yer aldığı bildirilmiştir. *S. epidermis,* deri ve mukoza zarlarında doğal olarak bulunan fırsatçı bir patojendir. İdrar akışının gücü ve hızı, asitlik, ozmotik basınç ve epitel anatomisi gibi konağın doğal mekanik savunmalarına rağmen, farklı bakteri türleri ile enfeksiyon oluumu bakterilerin çoğunun aynı familyada bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bağırsaklarda ve medialde bulunan normal flora ve hamile kadınlarda cinsel organları temizlemenin zorluğu fırsatçı bakterilerin girişini, vajina ve idrar yollarının kolonizasyonunu ve istilasını kolaylaştırır. Enfeksiyon mesaneye kadar yükselterek iltihaplanmaya neden olur ve hamile kadınların zayıflamış bağışıklık sistemi patojenin vajina ve mesanenin epitel hücrelerine yayılmasına izin verir (Chaya and Parija 2014).

## 4.3 Hamilelik Evreleri

Toplamda 320 hamile kadından alınan idrar örneklerinin incelenmesi ve gebelik evreleri arasındaki ilişki Çizelge 4.2'de verilmiştir. Buna göre, 3. trimester evresinde %40 ile en yüksek izolasyon oranı kaydedilirken bunu sırasıyla, 2. trimester %36 ve en düşük izolasyon oranı ile 1. Trimester %24 takip etmiştir. Gebeliğin 3. trimester döneminde enfeksiyon prevalansının artmasının nedeni, altıncı haftadan itibaren en büyük boyuta ulaşan uterusun genişlemesinden kaynaklanmaktadır. Gebelik, mesane üzerinde baskıya ve genişlemeye yol açar, Progestin ve Östrojen hormonlarının artması sonucu üreter, alt idrar yolunun bakteri istilasına direnme yeteneğini azaltarak idrar konsantrasyonunun

azalmasına ve artmasına neden olur. Böylece bazı bakteri türlerinin büyümesine neden olur (Yan *et al*. 2019).

**Çizelge 4.2** Hamilelik evreleri ve enfeksiyon yüzdesi

| Dönem | Ay | Örneklem | Enfeksiyon Yüzdesi (%) |
|---|---|---|---|
| 1. trimester | 1. | 0 | 24 |
| | 2. | 4 | |
| | 3. | 8 | |
| 2. trimester | 4. | 4 | 36 |
| | 5. | 5 | |
| | 6. | 9 | |
| 3. trimester | 7. | 5 | 40 |
| | 8. | 6 | |
| | 9. | 9 | |
| Toplam | 50 | | 100 |
| $X^2$ | 3,12 | | |
| Hesaplanan P değeri | 0,210* | | |

*P<0,05'te önemli fark

Hamilelik evrelerine göre İYE incelediğimizde elde ettiğimiz sonuçlar bazı çalışmalarla uyumluluk göstermiştir. Bunlar; Al-Hashmay vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada en yüksek enfeksiyon oranları sırasıyla 3. trimester (%44,8), 2. trimester (%40,2) ve 1. trimester (%15), Biset vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada 3. trimester (%49,2), 2. trimester (%32,8) ve 1. trimester (%18) olarak, Bahati vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada 3. trimester (%46,4), 2. trimester (%37,9) ve 1. trimester (%15,7) olarak tespit edilmiştir.

Buna ilaveten bazı çalışmaların sonuçları ise bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile farklılık göstermiştir. Örneğin, Turay vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada en yüksek İYE insidansı 1. trimester (%36,5), 2. trimester (%35,3) ve 3. trimester (%28,2), (Okonko *et al.* 2009) tarafından yapılan çalışmada 1. trimester (%44,7), 2. trimester (%18,5) ve 3. trimester (%36,8), Dimetry vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada 1. trimester (%66,7), 2. trimester (%37,8) ve 3. trimester (%25) olarak tespit edilmiştir.

## 4.4 Yaş

Çalışmamızda İYE insidansı ve yaş grupları arasında ilişki tespit edilmiştir. Buna göre idrar örneği alınan 320 hamile kadın arasında en yüksek izolasyon oranı 18-27 yaş aralığında 25 (%50) olarak tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla 28-37 yaş grubu 15 (%30) takip ederken en düşük izolasyon oranı 38-47 yaş grubunda 10 (%20) bulunmuştur (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3** Yaş gruplarına göre İYE yüzdesi

| Yaş grubu | Numune sayısı | Pozitif kültür sayısı | Negatif kültür sayısı |
|---|---|---|---|
| 18-27 | 170 (%53,1) | 25 (%50) | 145 (%53,7) |
| 28-37 | 100 (%31,3 | 15 (%30) | 85 (%31,5) |
| 38-47 | 50 (%15,6) | 10 (%20) | 40 (%14,8) |
| Toplam | 320 | 50 | 270 |
| $X^2$ | 0,864 | | |
| Hesaplanan P değeri | 0,649* | | |

P<0,05'te önemli fark

Yaş ve İYE ile ilgili elde ettiğimiz sonuçlar bazı çalışmalarla uyumluluk göstermiştir. Bunlar; Al-Hashmay vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada en yüksek idrar yolu enfeksiyon oranları sırasıyla 18-25 yaş arası 45 (%51,7), 26-35 yaş arası 33 (%38) ve 36-42 yaş arası 9 (%10,3), Taye vd. (2018) tarafından, Güneydoğu Etiyopya'da yapılan çalışmada, 18-27 yaş arası %76,3, 28-37 yaş arası %20,7 ve 38-47 yaş arası %3, Fareed vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada 18-25 yaş arası %51,7, 26-35 yaş arası %38 ve 36-42 yaş arası %10,3 olarak tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak Belete (2020) tarafından Etiyopya'nın Kuzeybatı bölgesinde yapılan çalışmada İYE insidans oranları en yüksek 25-34 %56,7 yaşlarında, 15-24 yaş arası %33,4 ve 35-44 yaş arası %9,9 olarak bulunmuştur.

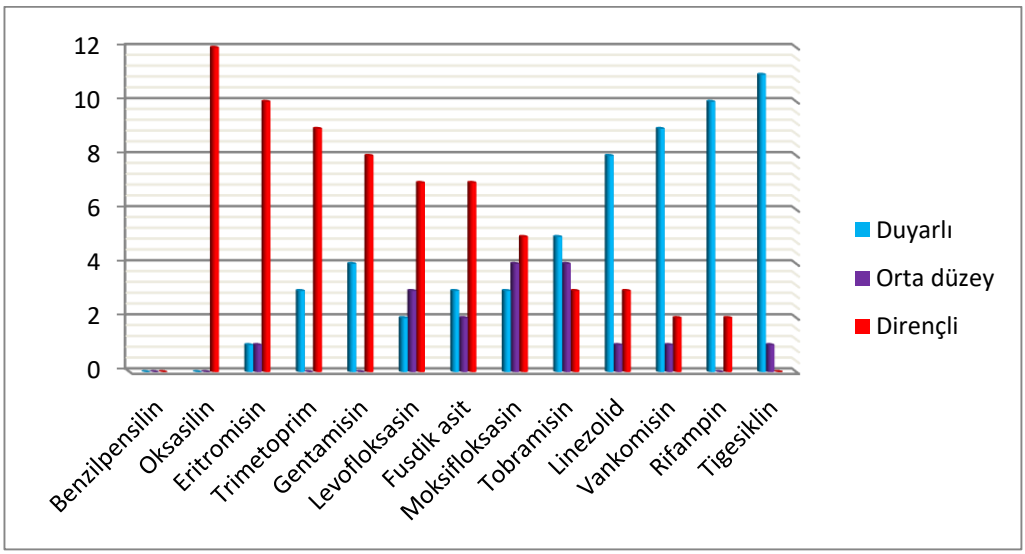
Buna ilaveten bazı çalışmaların sonuçları ise bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile farklılık göstermiştir. Örneğin, Biset vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada İYE insidans oranı en yüksek 25-29 yaş arası (%36,7), 28-37 yaş arası (%20,7) ve en düşük 38-47 yaş arasında %3 olarak ortaya çıkmıştır. Asmat vd. (2021) tarafından Pakistan, Lahore'da yapılan çalışmada en yüksek insidans oranı 25-34 yaş arasında (%77,5), 19-24 yaş arasında (%17,5) ve 35-45 yaş arasında en düşük (%5) değerleri almıştır. El-Kashif

(2019) Suudi Arabistan'da Wadi Alddawasir'de yapılan çalışmada en yüksek insidans oranı 25-35 yaş grubunda (%57,4) tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda 18-25 yaş arası bireylerde enfeksiyonun artmasının nedeni cinsel aktivitelerin artması, idrar-genital bölgenin nemli kalması ve kadın üretrasının vajinaya yakınlığından dolayı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bireylerin sağlık bilinci hakkındaki farkındalığının ve sosyo-ekonomik düzeylerinin düşük olması enfeksiyona karşı duyarlılığı artırmaktadır (Ranjan *et al.* 2017)

## 4.5 Gram Pozitif Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnci

İnsan patojenlerinin antibiyotik profilini incelemek, özellikle toplum kökenli enfeksiyonlarda bu patojenlerin neden olduğu enfeksiyonları yönetmek için çok önemli bir adımdır. Bu çalışmaya dahil edilen gram pozitif bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılık profili Vitek2 kompakt sistemi ile araştırılmış ve sonuçlar Şekil 4.10'da verilmiştir.




**Şekil 4.10** Gram pozitif bakterilerin antibiyotik direnç/duyarlılık durumları

Çalışmamızda pozitif bakteri üremesi gösteren 12 örnekte en yüksek antibiyotik direnci benzil Penisiline ve Oksasilin (%100) karşı elde edilmiş olup bunu sırasıyla Eritromisin

(%83,4), Sülfametoksazol (%75), Gentamisin (%66,7), Levofloksasin (%58,3), Fusdik asit (%58,3) ve Moksifloksasin (%41,7) izlemiştir (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4** Gram pozitif bakterilerde antibiyotik direnç dağılımı

| Antibiyotik | Duyarlı | Orta düzey | Dirençli | $X^2$ | P-değeri |
|---|---|---|---|---|---|
| Benzilpensilin | 0 | 0 | 12 (%100) | 36 | 0** |
| Oksasilin | 0 | 0 | 12 (%100) | 36 | 0** |
| Eritromisin | 1 (%8,3) | 1 (%8,3) | 10 (%83,4) | 20,2 | 0** |
| Trimetoprim / Sülfametoksazol | 3 (%25) | 0 | 9 (%75) | 15,7 | 0** |
| Gentamisin | 4 (%33,3) | 0 | 8 (66,7) | 12 | 0,002** |
| Levofloksasin | 2 (%16,7) | 3 (%25) | 7 (%58,3) | 5,25 | 0,075* |
| Fusdik asit | 3 (%25) | 2(%16,7) | 7 (58,3) | 5,25 | 0,075* |
| Moksifloksasin | 3(25%) | 4 (%33,3) | 5 (%41,7) | 0,75 | 0,687* |
| Tobramisin | 5 (%41,7) | 4 (%33,3) | 3 (%25) | 0,75 | 0,687* |
| Linezolid | 8 (%66,7) | 1 (%8,3) | 3 (%25) | 9,75 | 0,008** |
| Vankomisin | 9 (%75) | 1 (%8,3) | 2 (%16,7) | 14,25 | 0,001** |
| Rifampin | 10 (%83,40) | 0 | 2 (%16,7) | 21 | 0** |
| Tigesiklin | 11 (%91,7) | 1 (%8,3) | 0 | 27,75 | |
| $X^2$ | 89,02 | | | | |
| Hesaplanmış P değeri | 0** | | | | |

P<0,05'te önemli fark , ** P<0,05'te önemli fark

Elde edilen antibiyogram sonuçlarına göre 10 izolat çoklu, 2 izolat kapsamlı ilaç direncine sahip olduğu belirlenmiştir. Pan ilaç direncine rastlanmamıştır. Pozitif bakterilerde çoklu ilaç direnci sonuçları Çizelge 4.5 de verilmiştir.

**Çizelge 4.5** Gram pozitif bakterilerde çoklu ilaç direnci

| **Direnç türü** | **İzolasyon sayısı** | **Yüzde (%)** |
|---|---|---|
| DR | 0 | 0 |
| MDR | 10 | 83,3 |
| XDR | 2 | 16,7 |
| PDR | 0 | 0 |
| Toplam | 12 | 100 |
| $X^2$ | 30,22 | |
| Hesaplanmış P değeri | 0* | |

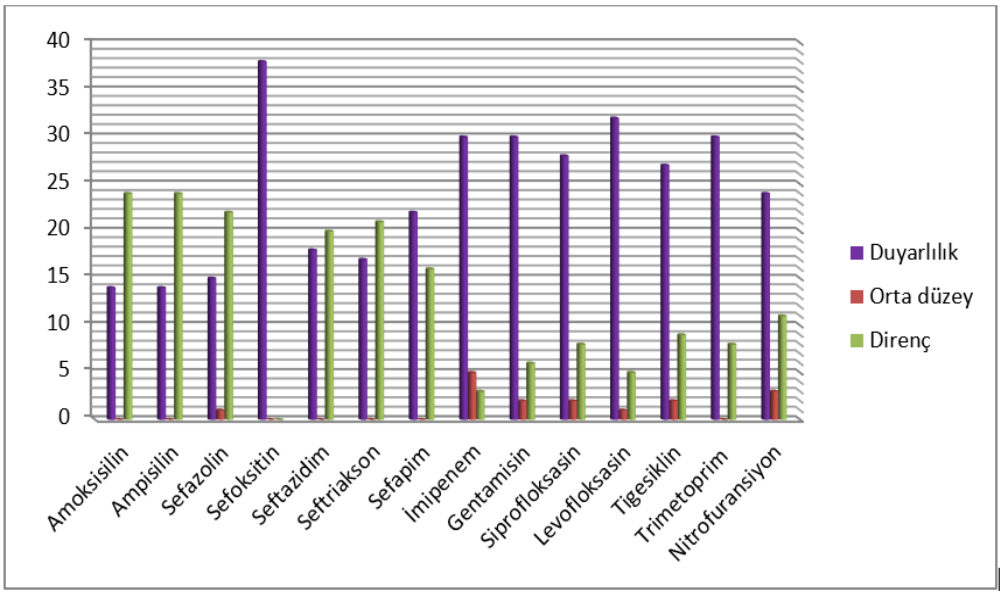
*P<0,05'te önemli fark, DR=İlaç direnci, MDR=Çoklu ilaç direnci, XRD=Kapsamlı İlaç Direnci, PDR=Pan ilaç direnci

Gram pozitif bakterilerde artan MDR yüzdesi daha önce yapılan çalışmalarla da tespit edilmiştir (Belete 2020, Ngalani *et al*. 2020). Ajanların yaygın kullanımı, mobil genetik elementlerin kazanılması genomik yeniden düzenleme ve mutasyonların bu yaygın

antibiyotik direnç fenotipinin arkasındaki nedenler olduğu düşünülmektedir. Elde edilen dikkate değer bulgular, bakterideki antibiyotik direncinin boyutuna dair endişe verici bir işaret olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle, Vankomisin ve Linezolid direncinin ortaya çıkması bu bakterinin klinik etkisini olduğunu vurgulamaktadır. Vitek2 sistemi ile elde edilen antibiyotik hassasiyet sonuçlarına göre gram pozitif bakteri izolatlarının 12/12'si (%100) dirençli olarak tespit edilmiştir. Metisiline dirençli stafilokoklar önemli bir özelliğe sahiptir ve en büyük yayılım gösteren hastane patojenleri arasında yer alır. Hastanelerdeki MR-CopS prevalansı ve karakterizasyonu dünyanın farklı bölgelerinden belirtilmiştir (Chen and Huang 2014, Becker *et al*. 2014). Bununla birlikte, MR-CopS'lerin nazokomiyal izolatlarında antibiyotik çatışmasının artması bu sorunu daha da kötüleştirmekte ve hastane kaynaklı enfeksiyonların yönetimi için büyük bir zorluk oluşturmaktadır (Kitti *et al*. 2019).

## 4.6 Gram Negatif Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnci

Bu çalışmaya dahil edilen gram negatif bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılık profili Vitek 2 kompakt sistemi ile araştırılmış ve sonuçlar Şekil 4.11'de verilmiştir.




**Şekil 4.11** Gram negatif bakterilerin antibiyotik direnç/duyarlılık durumları

Çalışmamızda Gram negatif bakteri üremesi gösteren 38 bakteri izolatı arasında en yüksek antibiyotik direnci Amoksisilin (%63,2), Ampisilin (%63,2), Cefazolin (%57,9), Seftriakson (%55,3) ve Ceftazidim (%52,4) olarak sıralanmaktadır. Çizelge 4.6'da Gram negatif bakterilerin 14 çeşit antibiyotiğe karşı gösterdikleri direnç oranları bulunmaktadır.

**Çizelge 4.6** Gram negatif bakterilerde antibiyotik direncinin dağılımı

| Antibiyotikler | Duyarlılık | Orta düzey | Dirençli | $X^2$ | P-değeri |
|---|---|---|---|---|---|
| Amoksisilin | 14 (%36,8) | 0 | 24 (%63,2) | 34,42 | 0* |
| Ampisilin | 14 (%36,8) | 0 | 24 (%63,2) | 34,42 | 0* |
| Sefazolin | 15 (%39,5) | 1 (%2,6) | 22 (%57,9) | 27,07 | 0* |
| Sefoksitin | 38 (%100) | 0 | 0 | 114 | 0* |
| Seftazidim | 18 (%47,4) | 0 | 20 (%52,6) | 28,73 | 0* |
| Seftriakson | 17 (%44,7) | 0 | 21 (%55,3) | 29,44 | 0* |
| Sefapim | 22 (%57,9) | 0 | 16 (%42,1) | 30,63 | 0* |
| İmipenem | 30 (%79) | 5 (%13,1) | 3 (%7,9) | 53,6 | 0* |
| Gentamisin | 30 (%79) | 2(%5,3) | 6 (%15,7) | 54,3 | 0* |
| Siprofloksasin | 28 (%73,6) | 2 (%5,3) | 8 (%21,1) | 43,89 | 0* |
| Levofloksasin | 32 (%84,2) | 1 (%2,6) | 5 (%13,2) | 67,34 | 0* |
| Tigesiklin | 27 (%71) | 2 (%5,3) | 9 (%23,7) | 39,39 | 0* |
| Nitrofuransiyon | 24 (%63,6) | 3 (%7,9) | 11 (%28,9) | 26,6 | 0* |
| Trimetoprim/ Ametoksazol | 30 (%78,9) | 0 | 8 (%21,1) | 57,15 | 0* |
| $X^2$ | 128,29 | | | | |
| P-değeri | 0* | | | | |

*P<0,05'te önemli fark

Bu çalışmada on dört çeşit antibiyotik test edilmiştir. Buna göre Gram negatif bakteri izolatlarının CLSI'ye göre sınıflandırılması yapılmıştır Wayne vd. (2014). Elde edilen sonuçlar incelendiğinde Çoklu ilaç direnci 22 (%84,6) ve Kapsamlı İlaç Direnci ise 4 (%15,4) olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7'de verilmiştir.

**Çizelge 4.7** Gram negatif bakterilerde ilaç direnci

| **Direnç Türü** | **İzolasyon sayısı** | **Yüzde (%)** |
|---|---|---|
| DR | 0 | 0 |
| MDR | 22 | 84,6 |
| XDR | 4 | 15,4 |
| PDR | 0 | 0 |
| Toplam | 26 | 100 |
| $X^2$ | 67,89 | |
| Hesaplanmış P değeri | 0* | |

*P<0,05'te önemli fark, DR=İlaç direnci, MDR=Çoklu ilaç direnci, XRD=Kapsamlı İlaç Direnci, PDR=Pan ilaç direnci

Gram negatif bakteri izolatlarının antibiyotik direnç sonuçları bazı çalışmalarla uyumluluk göstermiştir. Simon-Oke vd. (2019) tarafından Nijerya Akure'de yapılan çalışmada, Benzilpenisilin ve Eritromisin %100, Gentamisin %85.2 dirençli, Ayogu vd. (2017) tarafından Nijerya'nın Ebonyi Eyaletinde yapılan çalışmada, Benzilpenisilin %99, Oksasilin %92, Eritromisin %72 ve Gentamisin %60 dirençli, Al-Hashmay vd. (2021) tarafından Irak'ın Thi-Qar ilinde yapılan çalışmada Gentamisin %11,4 ve Levofloksasin %6,8 dirençli, Kennedy vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada Oksasilin %34,1, Eritromisin %40 dirençli olarak tespit edilmiştir.

Son zamanlarda bazı antibiyotiklere (özellikle beta-laktam antibiyotiklere) karşı yüksek direnç oranı, popülasyonda ayrım gözetmeyen antibiyotik kullanımından kaynaklanma ktadır. Tıbbi reçeteyi doğru kullanmamak ve bazı bakteri türlerini bazı antibiyotik türlerine direnmelerine yardımcı olan genetik mutasyonlara neden olmaktadır (Al-Shara 2013).

Bu çalışmada on iki çeşit antibiyotik test edilmiştir. Buna göre Gram pozitif bakteri izolatlarının CLSI'ye göre sınıflandırılması yapılmıştır Wayne vd. (2014) Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, DR ve PDR'ye (%0) karşı dirençli olmadıkları tespit edilmiştir MDR direnci 10 (%83,3) ve XDR direnci ise 2 (%16,7) olarak bulunmuştur.

Gram negatif bakteri izolatlarının antibiyotik direnç sonuçları bazı çalışmalarla uyumluluk göstermiştir. Asmat vd. (2021) tarafından Pakistan Lahore'da yapılan çalışmada gram negatif bakterilerin antibiyotik direnci Amoksisilin (%100), Ampisilin (%95,3), Seftriakson (%72) ve Seftazidim (%50), Lhwak ve Abbas (2018) Irak'ta Dhi Qar'da yaptıkları çalışmada Amoksisilin (%100), Seftazidim (%80) ve Seftriakson (%73,3), Bahati vd. (2020) tarafından Uganda'nın güneybatısında yapılan çalışmada Amoksisilin (%95,7) ve Ampisilin (%95) olarak tespit edilmiştir.

Buna ilaveten bazı çalışmaların sonuçları ise bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile farklılık göstermiştir.Örneğin, Biset vd. (2020) tarafından Kuzeybatı Etiyopya'da yapılan çalışmada, Seftriakson (%16), ve Seftazidim (%16,6), Belete (2020) tarafından

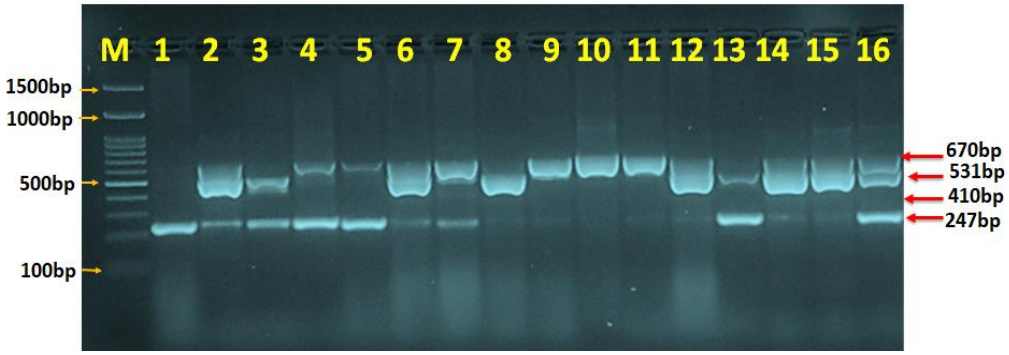
Kuzeydoğu Etiyopya'da yapılan çalışmada ise Seftriakson (%29,4), ve Seftazidim (%11,8) olarak bulunmuştur.

Irak'ta hastanelerde ve toplumda antimikrobiyal direnç önemli bir sorun haline gelmiştir (Nugent *et al*. 2010). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda antibiyotik oranlarına duyarlılıkta belirgin azalma tespit edilmiştir. Bazı antibiyotiklerle (özellikle beta-laktam antibiyotiklerle) karşı karşıya kalma oranının yüksek olması, popülasyondaki antibiyotiklerin ayrım gözetmeksizin kullanılmasına bağlanabilir. Tıbbi reçeteyi doğru kullanmamak ve bazı bakteri türlerini bazı antibiyotik türlerine direnmelerine yardımcı olan genetik mutasyonlara maruz bırakmak da bu oranların yüksek olmasına katkıda bulunmaktadır (El Kholy *et al.* 2003).

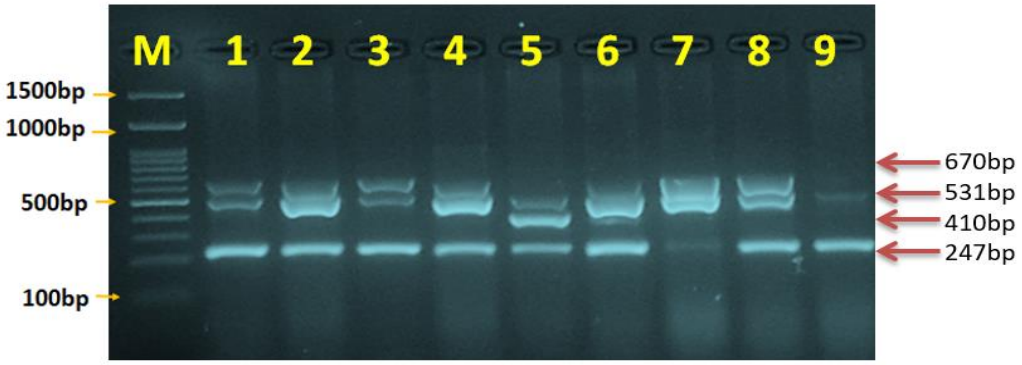
Çoklu ilaca dirençli mikro organizma, birkaç veya daha fazla antimikrobiyal ilaca dirençli mikro organizmadır. MDR, son yıllarda yaygın bir hal almıştır Magiorakos ve (2012) ve halk sağlığı riskleri oluşturan ciddi etmenler arsında yer almaktadır. Antimikrobiyaller, bakterilerin neden olduğu zararı önlemek veya azaltmak için çeşitli varyasyonlarda kullanır (Aly and Balkhy 2012).

## 4.7 Gram Negatif Bakterilerde PZR Tekniği ile GSBL Genlerinin Tespiti

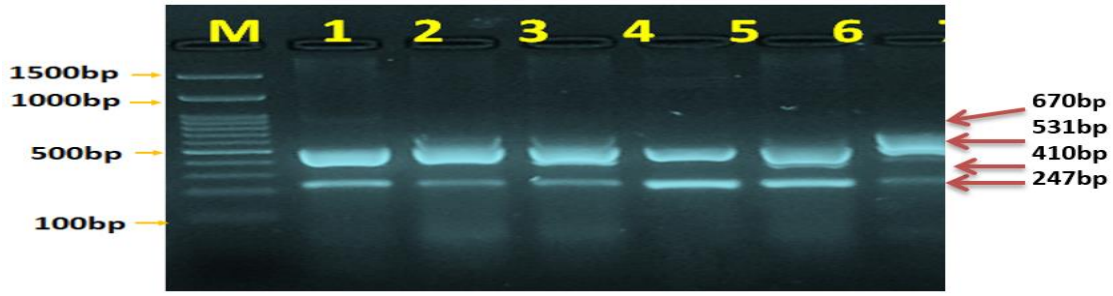
Bu çalışmada gram negatif bakteri izolatlarında GSBL genleri *(TEM, SHV, AMPC, CTX-M ve mecA genler*) Multipleks PZR amplifikasyonu ile araştırılmıştır. *TEM* genleri için 28 izolatta, SHV geni 1 izolatta, AMPC geni 19 izolatta ve CTXM geni 26 izolatta poizitif belirlenmiştir. Elde edilen jel görüntüleri Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve veriler Çizelge 4.8'de verilmiştir.



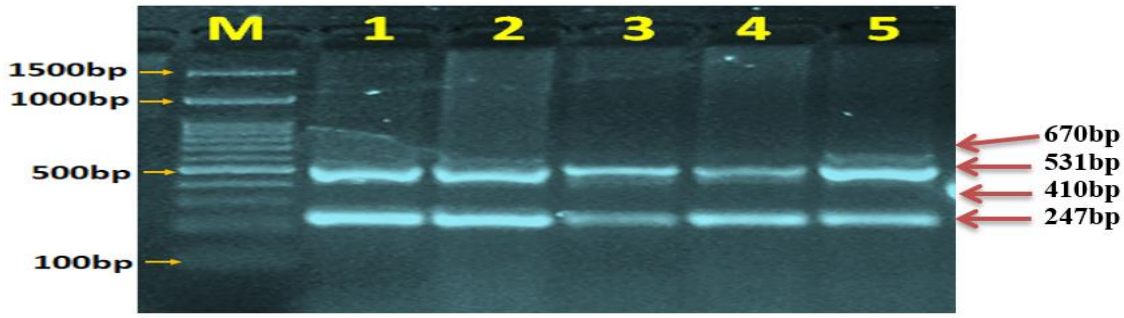

**Şekil 4.12** *Escherichia coli* izolatlarında bla-*CTXM* (247bp), *bla-SHV* (410bp), *bla-TEM* (531bp) ve *bla-AMPC* (670bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü




**Şekil 4.13** *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında bla-*CTXM* (247bp), *bla-SHV* (410bp), *bla-TEM* (531bp) ve *bla-AMPC* (670bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü




**Şekil 4.14** *Proteus mirabilis* izolatlarında bla-*CTXM* (247bp), *bla-SHV* (410bp), *bla-TEM* (531bp) ve *bla-AMPC* (670bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü



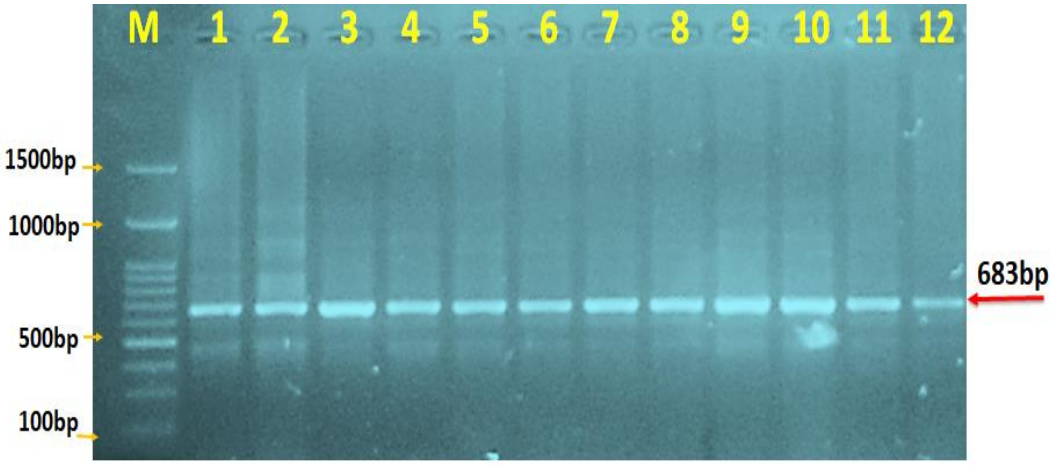

**Şekil 4.15** *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında bla-*CTXM* (247bp), *bla-SHV* (410bp), *bla-TEM* (531bp) ve *bla-AMPC* (670bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü

**Çizelge 4.8** Gram negatif bakteri izolatları arasında GSBL genlerden *TEM*, *SHV*, *AMPC* ve *CTX-M* dağılımı

| **Organizma** | **Toplam Sayı** | ***TEM geni*** | ***SHV geni*** | ***AMPC geni*** | ***CTXM geni*** | **$X^2$** | **P-değeri** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | 18 | 9 (50) | 0 | 12 (66,6) | 8 (44,4) | 18,18 | 0** |
| *Klebsiella pneumonia* | 9 | 8 (88,8) | 1 (11,1) | 6 (66,6) | 8 (88,8) | 15,77 | 0,0**01 |
| *Proteus mirabillis* | 6 | 6 (100) | 0 (0) | 1 (16,6) | 5 (88,8) | 17,33 | 0,0**01 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 5 | 5 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 5 (100) | 20 | 0** |
| Toplam | 50 | 28 | 1 | 19 | 26 | | |
| $X^2$ | | 10,2 | 3,3 | 10,66 | 9,45 | | |
| P-değeri | | 0** | 0,346* | 0,014** | 0,024** | | |

## 4.8 Gram Pozitif Bakterilerde mecA Geni Tespiti

Bu çalışmada gram pozitif bakteri izolatlarında *mecA* geni PZR ile araştırılmıştır. *S.aureus* izolatlarının tümü (12 izolat) *mecA geni* için pozitif sonuçlar vermiştir. Hedeflenen ürün boyutu 683 bp olarak belirlenmiş ve Şekil 4.16'da elde edilen PZR jel görüntüsü verilmiştir.




**Şekil 4.16** *Staphylococcus aureus* izolatlarında metisilin *mecA* geninin (683bp) PZR ürünlerinin jel görüntüsü

Gram negatif bakterilerde PZR ile GSBLs genlerinin tespiti sonucunda *TEM* 28 (%73,6), *SHV* 1 (%2,6), *CTX-M* 26 (%68,4) ve *AMPC* 9 (%23,6) olmak üzere dört tip GSBL tespit edilmiştir. PZR testleri, duyarlılık profillerine göre seçilen 38 Gram-negatif bakteri izolatı üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler Lhwak ve Abbas (2018)'ın yapmış olduğu çalışmada elde ettiği *CTX-M* 17(%18,8), *TEM* 16 (%17,7) ve *SHV* 13 (%14,4) verileri ile uyumluluk göstermektedir. Ayrıca, Enogiomwan ve Ibeh (2018) tarafından Nijerya'nın Benin şehrinde yapılan çalışmada patojenik *Escherichia coli* bakterisinden elde edilen 147 örnek üzerinde 47'si GSBL pozitif, *CTX-M* ise 14 (%29,7) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Al-Mayahie (2013) tarafından yapılan araştırmanın *CTX-M* (%69,5) ve *SHV* (%4,3) sonuçları ile farklılık göstermiştir.

Çalışmamızda bildirilen GSBL sıklığı, klinik izolatlarda laboratuvar taramasına özen gösterilmemesinden kaynaklanmaktadır.

## 4.9 *mecA* ve *CTX-M* Direnç Genlerinin Sekans ve Filogenetik Analizi

Bu tezde identifiye edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarından birinin (12) *mecA* geni sekans verileri genetic analyzer 3500 uygulamalı biyosistem cihazı kullanılarak

belirlenmiştir. Cihaz örneklerdeki DNA dizisini belirlemek için Sanger teknolojisini kullanılmıştır. Elde edilen gen sekans verileri Çizelge 4.9'da verilmiştir.

**Çizelge 4.9** *S. aureus*'ta *mecA* geninin çoklu dizi (sekans) hizalama analizi

| **Puan** | **Bekleme** | **Kimlik** | **Boşluk** | **İplik** |
|---|---|---|---|---|
| **839 bit (454)** | **0,0** | **466/471 (99%)** | **3/471 (0%)** | **artı/artı** |
| Sorgu 1 AGATAGCAGTTATATTTCTAAAAGCGATAATGGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGA T 60 | | | | |
| Sbjct 281 ..... ..... 340 | | | | |
| Sorgu 61 AAAAATATATAATAGTTTAGGCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCG TAAAATAAAAAAA 120 | | | | |
| Sbjct 341 ..... ..... 400 | | | | |
| Sorgu 121 AGTATCTAAAAATAAAAAACGAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAAAA CTACGGTAA 180 | | | | |
| Sbjct 401 ..... ..... 460 | | | | |
| Sorgu 181 CATTGATCGCAACGTTCAATTTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTG 240 | | | | |
| Sbjct 461 ..... ..... 520 | | | | |
| Sorgu 241 GGATCATAGCGTCATTATTCCAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTT 300 | | | | |
| Sbjct 521 ..... ..... 580 | | | | |
| Sorgu 301 AAAATCAGAACGTGGTAAAATTTTAGACCGAAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAA C 360 | | | | |
| Sbjct 581 ..... ..... 640 | | | | |
| Sorgu 361 AGCATATGAGA-TAGGCATCGTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAACCAATCG 419 | | | | |
| Sbjct 641 . - ..... T ..... .. G ..... 699 | | | | |
| Sorgu 420 CTAAAGAACTAAGTATTTCTGAAGACTATATCAAACAAAAAATGGATCAAA 470 | | | | |
| Sbjct 700 ..... - ..... C ..... ... 749 | | | | |

*S.aureus mecA* gen dizi analizi sonuçları, NCBI-Genbank'taki *Staphylococcus aureus* izolatının *mecA* genleri ile karşılaştırıldı ve çoklu dizi hizalama analizi yapıldı. Dizi karşılaştırması ve elde edilen filogenetik ağaç sırasıyla Çizelge 4.10 ve Şekil 4.17'de verilmiştir.

**Çizelge 4.10** *Staphylococcus aureus mecA* geninin çoklu dizi hizalama analizi

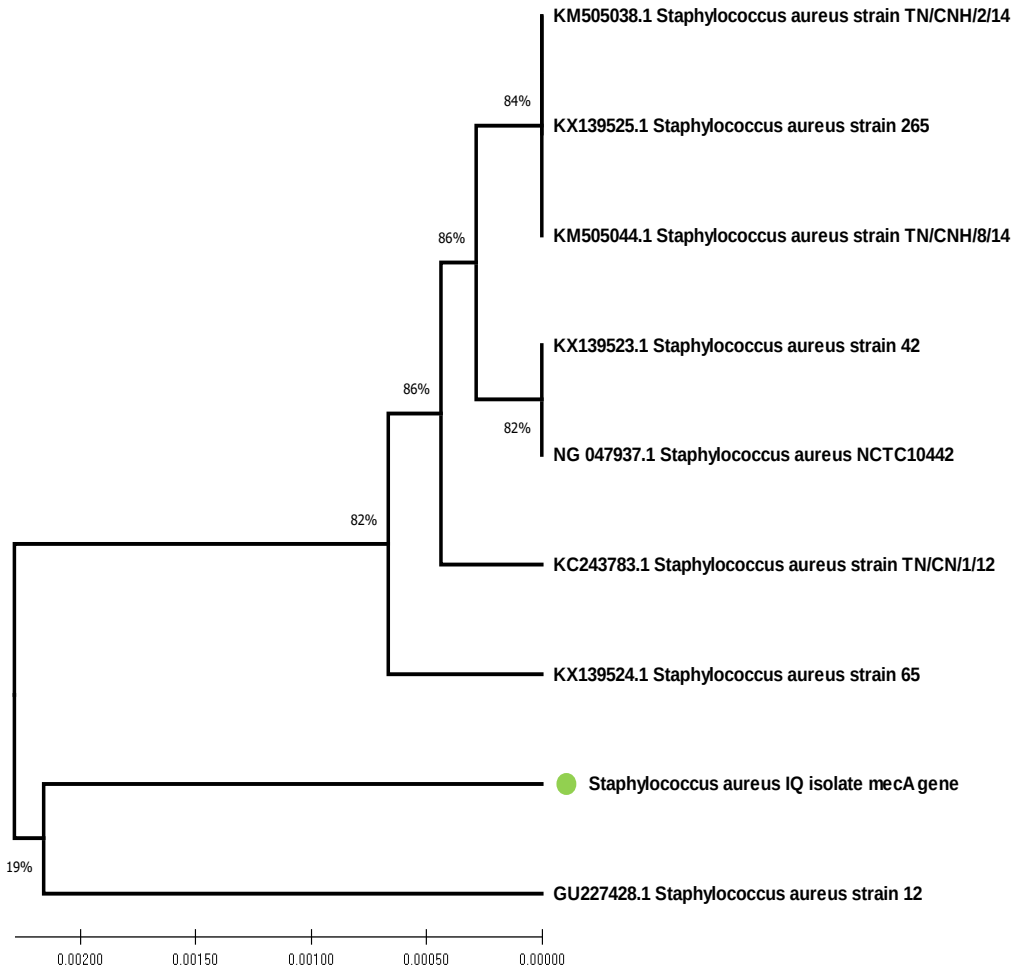
| |
|---|
| ST. IQ_izolatı<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATAATAGTTTAG |
| NG_047937.1<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATAATAGTTTAG |
| KX139523.1<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATATAATAGTTTAG |
| KX139524.1<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATAATAATAGTTTA<br>G |
| KX139525.1<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATAATAATAGTTTA<br>G |
| KM505038.1<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATAATAATAGTTTA<br>G |
| KM505044.1<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATATAATAGTTTAG |
| KC243783.1<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATAATAATAGTTTA<br>G |
| GU227428.1<br>AAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATAATAATAGTTTA<br>G |
| ********** |
| ST. IQ_izolatı<br>GCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAA<br>AC |
| NG_047937.1<br>GCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAA<br>AC |
| KX139523.1<br>GCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAA<br>AAC |
| KX139524.1<br>GCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAA<br>A |
| KX139525.1<br>GCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAA<br>A |
| KM505038.1<br>GCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAC |
| KM505044.1<br>GCGTTAAAGATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAAA |
| KC243783.1<br>GCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAA<br>A |
| GU227428.1<br>GCGTTAAAGATATAAAACATTCAGGATCGTAAAAATAAAAAAAGTATCTAAAAATAAAAA<br>AC |
| ********** |
| ST. IQ_izole<br>GAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAACTACGGTAACATTGATCGCAACGTTCAAT |
| NG_047937.1<br>GAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAACTACGGTAACATTGATCGCAACGTTCAAT |

**Çizelge 4.11** *Staphylococcus aureus mecA* geninin çoklu dizi hizalama analizi (Devam)

| |
|---|
| KX139524.1<br>GAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAACTACGGTAACATTGATCGCAACGTTCAAT |
| KX139525.1<br>GAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAACTACGGTAACATTGATCGCAACGTTCAAT |
| KM505038.1<br>GAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAACTACGGTAACATTGATCGCAACGTTCAAT |
| KM505044.1<br>GAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAACTACGGTAACATTGATCGCAACGTTCAAT |
| KC243783.1<br>GAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAACTACGGTAACATTGATCGCAACGTTCAAT |
| GU227428.1<br>GAGTAGATGCTCAATATAAAATTAAAACAAACTACGGTAACATTGATCGCAACGTTCAAT |
| ********** |
| ST. IQ_izolatı<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| NG_047937.1<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| KX139523.1<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| KX139524.1<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| KX139525.1<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| KM505038.1<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| KM505044.1<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| KC243783.1<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| GU227428.1<br>TTAATTTTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTC |
| ********** |
| ST. IQ_izolatı |
| CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| NG_047937.1<br>CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| KX139523.1<br>CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| KX139524.1<br>CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAAATTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| KX139525.1<br>CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| KM505038.1<br>CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| KM505044.1<br>CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| KC243783.1<br>CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| GU227428.1<br>CAGGAATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAA |
| ********** |
| ST. IQ_izolatı TTTTAGACCGAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACAGCATATGAGAT-AGGCATC |

**Çizelge 4.12** *Staphylococcus aureus mecA* geninin çoklu dizi hizalama analizi (Devam)

| |
|---|
| NG_047937.1 TTTTAGACCGAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACAGCATATGAGAT-AGGCATC |
| KX139523.1 TTTTAGACCGAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACAGCATATGAGAT-AGGCATC |
| KX139524.1 TTTTAGACCGAAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACAGCATATGAGAT-AGGCATC |
| KX139525.1 TTTTAGACCGAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACAGCATATGAGAT-AGGCATC |
| KM505038.1 TTTTAGACCGAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACAGCATATGAGAT-AGGCATC |
| KM505044.1 TTTTAGACCGAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACAGCATATGAGAT-AGGCATC |
| KC243783.1 TTTTAGACCGAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACAGCATATGAGAT-AGGCATC |
| GU227428.1 TTTTAGACCGAAACAATGTGGAATTGGCCAATACAGGAACA-CATATGAGATTAGGCATC |
| ********** ********* |
| ST. IQ_izolatı GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAACCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| NG_047937.1 GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| KX139523.1 GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| KX139524.1 GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| KX139525.1 GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| KM505038.1 GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| KM505044.1 GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| KC243783.1 GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| GU227428.1 GTTCCAAAGAATGTATCTAAAAAAAGATTATAAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTTCT |
| ********** ********* |
| ST. IQ_izolatı |
| GAAGACTATATCAAACAAAAAATGGATCAAA---------- |
| NG_047937.1 GAAGACTATATCAAACAACAAATGGATCAAAATTGGGTACAAGATGATACCTTCGTTCCA |
| KX139523.1 GAAGACTATATCAAACAACAAATGGATCAAAATTGGGTACAAGATGATACCTTCGTTCCA |
| KX139524.1 GAAGACTATATCAAACAACAAATGGATCAAAAGTGGGTACAAGATGATACCTTCGTTCCA |
| KX139525.1 GAAGACTATATCAAACAACAAATGGATCAAAATTGGGTACAAGATGATACCTTCGTTCCA |
| KM505038.1 GAAGACTATATCAAACAACAAATGGATCAAAATTGGGTACAAGATGATACCTTCGTTCCA |
| KM505044.1 GAAGACTATATCAAACAACAAATGGATCAAAATTGGGTACAAGATGATACCTTCGTTCCA |
| KC243783.1 GAAGACTATATCAAACAACAAATGGATCAAAATTGGGTACAAGATGATACCTTCGTTCCA |
| GU227428.1 GAAGACTATATCAACAACAAATGGATCAAAATTGGGTACAAGATGATACCTTCGTTCCA |




**Şekil 4.17** *Staphylococcus aureus* izolatında mecA gen dizisi filogenetik ağaç

Filogenetik analiz sonuçlarına göre *S.aureus* IQ izolatının NCBI- Genbankasında bulunan Gu 227428 *S.aureus* suş 12 ile benzerlik oranının yüksek olduğu bulunmuştur. NCBI-BLAST genetik varyasyon analiz verileri Çizelge 4.11'de verilmiştir.

**Çizelge 4.13** NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi

| **İzolasyon** | **Hedef gen** | **Erişim numarası** | **Homoloji dizi kimliği (%)** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Özdeş *CTXM* aleli** | **Mutasyon Sayısı** | **Mutasyon %** | **Kimlik (%)** |
| *S. aureus* IQ izolatı | *mecA geni* | ON569815 | *mecA suşu 12* | 5 | %1,06 | %98,94 |

Direnç geni *mecA*'nın dizi analizi amacıyla gönderilen *Staphylococcus aureus* izolatı (12), azotlu baz Guanin'in azotlu baz Adenin ile ve azotlu baz Timineat'ın azotlu baz Sitozin ile değiştirilmesiyle genetik mutasyonlar göstermiştir. Çizelge.4.9'de gösterildiği gibi 641 konumunda bu çalışma aynı zamanda Hanssen vd. (2004) çalışmasıyla benzerdir. Bu çalışmadaki *Staphylococcus aureus mecA* geninin mutasyon yüzdesi Abbas ve Hamim (2019) çalışmasının sonuçlarıyla uyumludur.

Genetik değişiklikler bölgeye ve ilaç kullanımına bağlı olarak oluşabileceği gibi, genetik değişiklikler ile tedaviye direncin ortaya çıkması arasında da bir ilişki olabilir.

Bu tezde identifiye edilen *E. coli, P. mirabilis, K. pneumoniae ve P. aeruginosa* izolatlarında *blaCTX-M* geni sekans verileri genetic analyzer 3500 uygulamalı biyosistem cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Cihaz örneklerdeki DNA dizisini belirlemek için Sanger teknolojisini kullanılmıştır. Elde edilen gen sekans verileri sırasıyla Çizelge 4.12, Çizelge 4.13, Çizelge 4.14 ve Çizelge 4.15 ’de verilmiştir.

**Çizelge 4.14** *E. coli*'de *CTX-M* geninin çoklu dizi hizalama analizi

| **Puan** | **Bekleme** | **Kimlik** | **Boşluk** | **İplik** |
|---|---|---|---|---|
| **433 bit (234)** | **6,00E-125** | **236/237 (99%)** | **0/237 (0%)** | **artı/artı** |
| Sorgu 1 ACTGGGTGTGGCATTGATTAACACAGCAGATAATTCGCAAATACTTTATCGTGCTGATGA 60 | | | | |
| Sbjct 141 ..... ..... 200 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 61 GCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGTGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAG 120 | | | | |
| Sbjct 201 ..... ..... 260 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 121 TGAAAGCGAACCGAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAA 180 | | | | |
| Sbjct 261 ..... ..... 320 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 181 CTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCACTGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG 237 | | | | |
| Sbjct 321 ..... **A** ..... ..... 377 | | | | |

**Çizelge 4.15** *P. mirabilis*'te *CTX-M* geninin çoklu dizi hizalama analizi

| Puan | Bekleme | Kimlik | Boşluk | İplik |
|---|---|---|---|---|
| **424 bit (229)** | **4,00E-122** | **233/235 (99%)** | **0/235 (0%)** | **artı/artı** |
| Sorgu 1 ACTGGGTGTGGCATTGATTAACACAGCAGATAATTCGCAAATACTTTATCGTGCTGATGA 60 | | | | |
| Sbjct 141 ..... ..... 200 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 61 GCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGTGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAG 120 | | | | |
| Sbjct 201 ..... ..... 260 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 121 TGAAAGCGAACCGAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAA 180 | | | | |
| Sbjct 261 ..... ..... 320 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 181 CTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCACTGGGACGATGTCACTGGCTGTGCTT 237 | | | | |
| Sbjct 321 .....A..... ..A.... 375 | | | | |

**Çizelge 4.16** *K. pneumoniae*'de *CTX-M* geninin çoklu dizi hizalama analizi

| Puan | Bekleme | Kimlik | Boşluk | İplik |
|---|---|---|---|---|
| **470 bit (254)** | **5,00E-136** | **256/257 (%99)** | **0/257 (0%)** | **artı/artı** |
| Sorgu 1 CTGGGTGTGGCATTGATTAACACAGCAGATAATTCGCAAATACTTTATCGTGCTGATGA 60 | | | | |
| Sbjct 213 ..... ..... 272 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 61 GCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAG 120 | | | | |
| Sbjct 273 ..... ..... 332 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 121 TGAAAGCGAACCGAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAA 180 | | | | |
| Sbjct 333 ..... ..... 392 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 181 CTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAGCGC 240 | | | | |
| Sbjct 393 ..... ..... 452 | | | | |
| Sorgu 241 GGCCGCGCTAAAGTACA 257 | | | | |
| Sbjct 453 ……..... C ..... 469 | | | | |

**Çizelge 4.17** *P. aeruginosa*'da *CTX-M* geninin çoklu dizi hizalama analizi

| **Puan** | **Bekleme** | **Kimlik** | **Boşluk** | **İplik** |
|---|---|---|---|---|
| **466 bit (252)** | **7,00E-135** | **254/255 (99%)** | **0/255 (0%)** | **artı/artı** |
| Sorgu 1 ACTGGGTGTGGCATTGATTAACACAGCAGATAATTCGCAAATACTTTATCGTGCTGATGA 60 | | | | |
| Sbjct 264 ..... ..... 323 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 61 GCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAG 120 | | | | |
| Sbjct 324 ..... ..... 383 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 121 TGAAAGCGAACCGAATCTGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAA 180 | | | | |
| Sbjct 384 ..... ..... 443 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 181 CTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCATTGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAGCGC 240 | | | | |
| Sbjct 444 ..... **A** ..... ..... 503 | | | | |
| | | | | |
| Sorgu 241 GGCCGCGCTACAGTA 255 | | | | |
| Sbjct 504 ..... 518 | | | | |

*E. coli, P. mirabilis, K. pneumoniae ve P. aeruginosa blaCTX-M* geninin dizi analiz sonuçları, NCBI- Genbankasında bulunan *blaCTX-M* genleri ile karşılaştırılarak çoklu dizi hizalama analizi yapılmıştır. Elde edilen dizi karşılaştırılması ve filogenetik ağaç sırasıyla Çizelge 4.16 ve Şekil 4.18'de verilmiştir.

**Çizelge 4.18** *E. coli, P. mirabilis, K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatlarından *blaCTX-M* geni çoklu dizi hizalama analizi

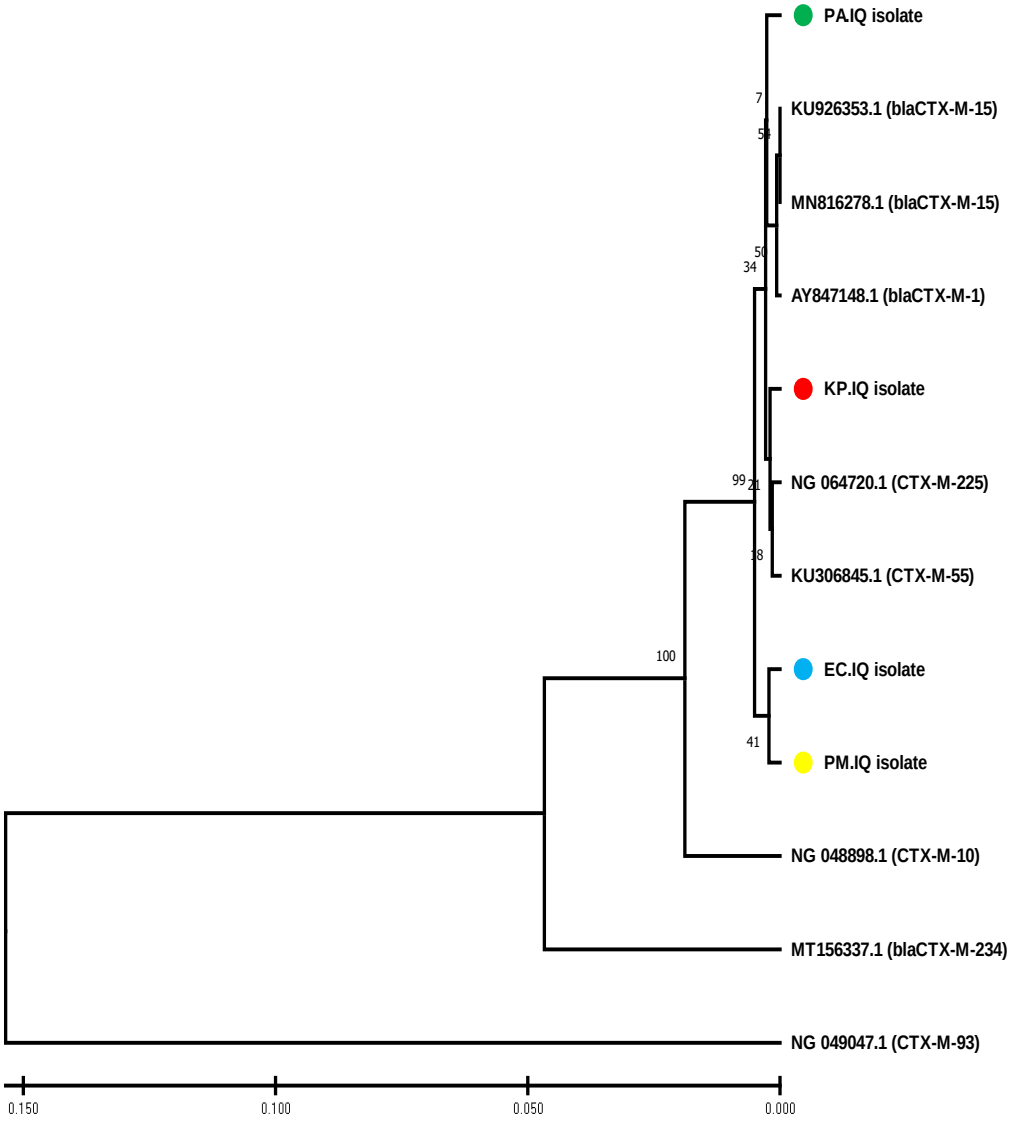
| |
|---|
| PM. IQ_izolatı CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| KU306845.1__CTX-M-55_ CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| EC. IQ_izolatı CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| NG_064720.1__CTX-M-225_ CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| MN816278.1__blaCTX-M-15_ CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |

**Çizelge 4.16** *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatlarından *blaCTX-M* geni çoklu dizi hizalama analizi (Devam)

| |
|---|
| KU926353.1__blaCTX-M-15_<br>CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| PA. IQ_izolatı<br>CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| AY847148.1__blaCTX-M-1_<br>CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| NG_048898.1__CTX-M-10_<br>CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| KP. IQ_izolatı<br>CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTGCGATGTGCAGCACCAGTAA |
| MT156337.1__blaCTX-M-234_<br>CAAATACTTTATCGTGCTGATGAGCGCTTTCCAATGTGCAGCACCAGTAA |
| NG_049047.1__CTX-M-93_<br>CAGGTGCTTTATCGCGGTGATGAACGCTTTCCAATGTGCAGTACCAGTAA |
| ** * ******** * ****** ****** * ******** ******** |
| PM. IQ_izolatı<br>AGTGATGGCCGTGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| KU306845.1__CTX-M-55_<br>AGTGATGGCCGTGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| EC. IQ_izolatı<br>AGTGATGGCCGTGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| NG_064720.1__CTX-M-225_<br>AGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| MN816278.1__blaCTX-M-15_<br>AGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| KU926353.1__blaCTX-M-15_<br>AGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| PA. IQ_izolatı<br>AGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| AY847148.1__blaCTX-M-1_<br>AGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| NG_048898.1__CTX-M-10_<br>AGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| KP. IQ_izolatı<br>AGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| MT156337.1__blaCTX-M-234_<br>AGTGATGGCCGTGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATC |
| NG_049047.1__CTX-M-93_<br>AGTTATGGCGGCCGCGGCGGTGCTTAAGCAGAGTGAAACGCAAAAGCAGC |
| *** ***** * ** ******** *** * ******** ** * * * |
| PM. IQ_izolatı<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |
| KU306845.1__CTX-M-55_<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |
| EC. IQ_izolatı<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |
| NG_064720.1__CTX-M-225_<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |
| MN816278.1__blaCTX-M-15_<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |
| KU926353.1__blaCTX-M-15_<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |

**Çizelge 4.16** *E. coli, P. mirabilis, K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatlarından *blaCTX-M* geni çoklu dizi hizalama analizi (Devam)

| |
|---|
| PA. IQ_izolatı<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |
| AY847148.1__blaCTX-M-1_<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |
| NG_048898.1__CTX-M-10_<br>TGTTAAATCAGCGAGTCGAGATCAAAAAATCTGACCTGGTTAACTATAAT |
| KP. IQ_izolatı<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAAT |
| MT156337.1__blaCTX-M-234_<br>TGTTAAATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAATCTGACCTTGTTAACTACAAT |
| NG_049047.1__CTX-M-93_<br>TGCTTAATCAGCCTGTCGAGATCAAGCCTGCCGATCTGGTTAACTACAAT |
| ** * ******** ** ******** * ** ** ******** *** |
| PM. IQ_izolatı<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCACTGGGACGATGTCACTGGCTGTGCTT-- |
| KU306845.1__CTX-M-55_<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG |
| EC. IQ_izolatı<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCACTGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG |
| NG_064720.1__CTX-M-225_<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG |
| MN816278.1__blaCTX-M-15_<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG |
| KU926353.1__blaCTX-M-15_<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG |
| PA. IQ_izolatı<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCATTGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG |
| AY847148.1__blaCTX-M-1_<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG |
| NG_048898.1__CTX-M-10_<br>CCGATTGCGGAAAAACACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTCAG |
| KP. IQ_izolatı<br>CCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGATGTCACTGGCTGAGCTTAG |
| MT156337.1__blaCTX-M-234_<br>CCGATTGCCGAAAAACACGTCAACGGCACAATGACGCTGGCAGAACTGAG |
| NG_049047.1__CTX-M-93_<br>CCGATTGCCGAAAAACACGTCAACGGCACAATGACGCTGGCAGAACTGAG |
| ******** ***** ******** ** ** *** * ***** * ** |




**Şekil 4.18** Lokal *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* IQ izolatlarında beta-laktamaz (*blaCTX-M*) genine dayalı filogenetik ağaç analizi

Bu filogenetik analiz sonuçlarına göre *E. coli* ve *P. mirabilis IQ* izolatlarının NCBI-BLAST KU306845,1 (CTX-M-55) ile *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatlarının sırasıyla NCBI-BLAST NG_064720,1 (*CTX-M-255*) ve KU926353,1 (*CTX-M-15*) ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, direnç geni *blaCTX-M*'nin dizi analizi amacıyla gebelerde idrar yolu enfeksiyonu tanısı konulan ve izole edilen her bakteri türünden birer izolat gönderilmiş ve bu bakteriler *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve

*Klebsiella pneumonia* Bu izolatlarda *blaCTXM* geninin DNA dizi analizinin yapıldığı yerde, sonuçlar gönderilen tüm türlerde bir genetik mutasyon olduğunu göstermiştir. *E. coli, P. mirabilis, K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa blaCTX-M* geni NCBI-BLAST genetik varyasyon analiz verileri Çizelge 4.17'de verilmiştir.

**Çizelge 4.19** *blaCTX-M* geni NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi

| **İzolasyon** | **Hedef gen** | **Erişim numarası** | **Homoloji dizi kimliği (%)** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Özdeş *CTXM* aleli** | **Mutasyon Sayısı** | **Mutasyon %** | **Kimlik (%)** |
| *E. coli* IQ izolatı | *CTX-M geni* | ON569811 | *CTXM-55* | 1 | %0,42 | %99,58 |
| *P. mirabilis* IQ izolatı | *CTX-M geni* | ON569812 | *CTXM-55* | 2 | %0,85 | %99,15 |
| *K. pneumoniae* IQ izolatı | *CTX-M geni* | ON569813 | *CTXM-255* | 1 | %0,39 | %99,61 |
| *P. aeruginosa* IQ izolatı | *CTX-M geni* | ON569814 | *CTXM-15* | 1 | %0,39 | %99,61 |

Direnç geni *blaCTX-M*'nin dizi analizi amacıyla gönderilen *Escherichia coli* izolatı (2), azotlu baz Guanin'i azotlu baz Adenin ile değiştirerek ve 321 pozisyonunda bir genetik mutasyon göstermiştir.

*blaCTX-M* geninin dizileme sonuçlarını analiz ettiğimizde, bu çalışmada Azab vd. (2021) *Escherichia coli* bakterisinin *blaCTX-M* gen mutasyon oranları ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca (Agyepong 2019, Tschudin-Sutter ve (2012) çalışmalarının, *Klebsiella pneumonia* bakterisinin *blaCTX-M* geninde genetik mutasyonların meydana geldiğini gösterdiği çalışma ile uyumludur. Jabbar ve Alramahy (2017), ve Tschudin-Sutter vd. (2012) *Pseudomonas aeruginosa* ile ilgili yaptıkları çalışmalarında *blaCTX-M* genetik mutasyonların meydana geldiğini göstermiştir.

# 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez sonucunda hamile kadınlarda idrar yolu enfeksiyon prevalansı %15,6 olarak tespit edilmiştir. En baskın üropatojenler *E. coli* ve *S. aureus* olarak bulunmuştur. İlaç direnci açısından değerlendirdiğimizde, Gram negatif bakterilerin %33,3'ünde direnç tespit edilirken, Gram pozitif bakterilerde bu değer %51,3 olarak kayıt altına alınmıştır. Sefamisin, Gram negatif bakteri üropatojenlerinin tedavisi için en iyi antibiyotik olarak karşımıza çıkarken Gram pozitif bakteriler için glisilsiklinlerden tigesiklin tespit edilmiştir. Amoksisilin ve ampisilin antibiyotikleri Gram negatif izolatlar üzerinde, benzilpensilin ve oksasilin antibiyotikleri de Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olmamıştır. GSBL üreten izolatların %28,8'inde gram negatif bakteri tespit edilmiştir ve çoğu izolat MDR olarak tespit edilmiştir. İzolatlar arasında *CTX-M-1* diğer genlerden (*TEM, SHV ve AMPC*) daha fazla saptanmıştır.

Tüm bu bilgiler doğrultusunda; Antibiyotiklere ve özel olarak B-laktama karşı artan direncin izlenmesine devam edilmesi fikrinin önemi bir kez daha ortaya çıkmıştır. Bu nedenle ulusal gözetim programlar çok önemli bir rol oynamaktadır. DNA dizilimini saptamak için β-laktamazların gen ekspresyonunun saptanması ve karakterizasyonu için gerçek zamanlı PZR gibi daha ileri tekniklerin kullanılması gerekmektedir. Elde edilen verilerin mutlaka Gen bankası NCBI'ye eklenmesi önem arz etmektedir.

Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde en iyi seçenek olarak karbapenem kullanılması. Antimikrobiyal direncin izlenmesinde yardımcı olacak β-laktamaz üreten G- ve G+ bakteri türlerinin sürekli gözetiminin yapılması ve oluşumunu en aza indirgemek için daha ileri çalışmaların tasarlanması gerekmektedir.

İdrar yolu enfeksiyonunun belirlenmesi için tüm hamile kadınların düzenli olarak taranmasını tavsiye edilmektedir. Bu tür taramalar, neden olan ajanın erken saptanmasına, uygun antimikrobiyal ilaçlarla yeterli tedavinin sağlanmasına ve anne ve fetüs için herhangi bir komplikasyonu önlemek için ilaç duyarlılıklarını belirlemeye yardımcı olacaktır.

## KAYNAKLAR


Abass, K., Adanu, S. K. and Agyemang, S. 2018. Peri-urbanisation and loss of arable land in Kumasi Metropolis in three decades: Evidence from remote sensing image analysis. Land Use Policy, 72: 470-479.

Abbas, A. A. and Hamim, S. S. 2019. Serological and Molecular detection of Staphylococcus aureus isolated from UTI patients. University of Thi-Qar Journal, 14(3): 64-79

Abbassi, M. S., Torres, C., Achour, W., Vinué, L., Sáenz, Y., Costa, D. and Hassen, A. B. 2008. Genetic characterisation of CTX-M-15-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli strains isolated from stem cell transplant patients in Tunisia. International Journal of Antimicrobial Agents, 32(4): 308-314.

Adabara, N.U., Momoh, J.A., Bala, J.D., Abdulrahaman, A.A. and Abubakar, M.B. 2012. The Prevalence of Bacterial Urinary Tract Infections (UTI) among Women Attending Antenatal Clinic in the General Hospital, Minna in Niger State. International Journal of Biomedical Research, 3(3): 171-173.

Agha, R. A., Borrelli, M. R., Farwana, R., Koshy, K., Fowler, A. J., Orgill, D. P. and Kasi, V. 2018. The SCARE 2018 statement: updating consensus Surgical CAse REport (SCARE) guidelines. International Journal of Surgery, 60: 132-136.

Al-Bassam, W. W. and Al-Kazaz, A. K. 2013. The isolation and characterization of Proteus mirabilis from different clinical samples. Journal of Biotechnology Research Center, 7(2): 24-30.

Al-Hashmay, D. S., Alibraheem, S. A. H. and Hussein, K. R. 2021. Molecular detection of Escherichia coli Cause Urinary Tract Infections among Pregnant Women at Thi-Qar province, Iraq. Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology, 15(2): 1275.

Al-Hazmi, H. 2015. Role of duration of catheterization and length of hospital stay on the rate of catheter-related hospital-acquired urinary tract infections. Research and Reports in Urology, 7: 41.

Al-Khafaji, N. and Al-Thahab, A. 2017. Phylogenetic study of Escherichia coli Isolated from Clinical Samples in Hilla city, Iraq. Journal of Pure and Applied Microbiology. ,11(4): 1777–1781

Al-Mayahie, S. M. 2013. Phenotypic and genotypic comparison of ESBL production by vaginal Escherichia coli isolates from pregnant and non-pregnant women. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 12(1): 1-7.

Al-Shara, J. M. R. 2013. Phenotypic and molecular detecting of carbapenem resistant Pseudomonas aeruginosa in Najaf Hospitals. Doctoral dissertation, PhD. Thesis, University of Kufa, 139 page, Iraq.

Al-Wazni, W. S. and Hadi, B. S. 2015. Antivirulence effects of pomegranate peel extracts on most common urinary tract infection pathogens in pregnant women. Journal of Contemporary Medical Sciences, 1(4): 7-12.

Aly, M. and Balkhy, H. H. 2012. The prevalence of antimicrobial resistance in clinical isolates from Gulf Corporation Council countries. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 1(1): 1-5.

Andersson, S. H. A., Rymer, J., Joyce, D. W., Momoh, C. and Gayle, C. M. 2012. Sexual quality of life in women who have undergone female genital mutilation: a case–control study. BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology, 119(13): 1606-1611.

Asmat, U., Mumtaz, M. Z. and Malik, A. 2021. Rising prevalence of multidrug-resistant uropathogenic bacteria from urinary tract infections in pregnant women. Journal of Taibah University Medical Sciences, 16(1): 102-111.

Agyepong, N., Govinden, U., Owusu-Ofori, A., Amoako, D. G., Allam, M., Janice, J. and Essack, S. 2019. Genomic characterization of multidrug-resistant ESBL-producing Klebsiella pneumoniae isolated from a Ghanaian teaching hospital. International Journal of Infectious Diseases, 85: 117-123

Ayogu, T. E., Orji, J. O., Orji, L. I., Umezurike, R. C., Uzoh, C. V. and Ibiam, U. U. 2017. Antibiotic resistance pattern of Escherichia coli and Staphylococcus aureus from pregnant women with urinary tract infection (UTI) in Ezza South LGA of Ebonyi State, Nigeria. Middle-East Journal of Scientific Research, 25(5): 1120-1135.

Azab, K. S., Abdel-Rahman, M. A., El-Sheikh, H. H., Azab, E., Gobouri, A. A. and Farag, M. M. 2021. Distribution of Extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-encoding genes among multidrug-resistant gram-negative pathogens collected from three different countries. Antibiotics, 10(3): 247

Bahati, J., Stephen, B. M., Joseph, N., Asiphas, O., Musa, K. and Taseera, K. 2020. Prevalence and bacteriology of symptomatic urinary tract infection among pregnant women at Mbarara Regional Referral Hospital, South-western Uganda, 2.

Bajpai, T., Bhatambare, G. S., Pandey, M. and Varma, M. 2014. Prevalence of multi, extensively and pan drug resistant uropathogens among the women patients visiting a tertiary care hospital in central India. International Journal of Health System and Disaster Management, 2(1): 38.

Baron, E. J., Bennion, R., Thompson, J., Strong, C., Summanen, P., McTeague, M. and Finegold, S. M. 1992. A microbiological comparison between acute and complicated appendicitis. Clinical Infectious Diseases, 14(1): 227-231.

Barriga, H. M., Booth, P., Haylock, S., Bazin, R., Templer, R. H. and Ces, O. 2014. Droplet interface bilayer reconstitution and activity measurement of the mechanosensitive channel of large conductance from Escherichia coli. Journal of the Royal Society Interface, 11(98): 20140404.

Bashir, U. and Ismail Ramay, M. 2010. Impact of stress on employees job performance: A study on banking sector of Pakistan. International Journal of Marketing Studies, 2(1): 122-126.

Becker, K., Heilmann, C. and Peters, G. 2014. Coagulase-negative staphylococci. Clinical Microbiology Reviews, 27(4): 870-926.

Belete, M. A. 2020. Bacterial profile and GSBL screening of urinary tract infection among asymptomatic and symptomatic pregnant women attending antenatal care of northeastern Ethiopia region. Infection and Drug Resistance, 13: 2579.

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

Brooks, G. F., Butel, J. S., Morse, S. A. and Jawetz, M. 2007. Adelberg's medical microbiology. Sultan Qaboos University Medical Journal, 7: 273.

Bush, K. and Jacoby, G. A. 2010. Updated functional classification of β-lactamases. Antimicrobial Agents and chemotherapy, 54(3): 969-976.

Chandran, A. and Mazumder, A. 2015. Pathogenic potential, genetic diversity, and population structure of Escherichia coli strains isolated from a forest-dominated

watershed (Comox Lake) in British Columbia, Canada. Applied and Environmental Microbiology, 81(5): 1788-1798.

Chaya, D. R. and Parija, S. C. 2014. Performance of polymerase chain reaction for the diagnosis of cystic echinococcosis using serum, urine, and cyst fluid samples. Tropical Parasitology, 4(1), 43.

Chen, C. J. and Huang, Y. C. 2014. New epidemiology of Staphylococcus aureus infection in Asia. Clinical Microbiology and Infection, 20(7): 605-623.

Dimetry, S. R., El-Tokhy, H. M., Abdo, N. M., Ebrahim, M. A. and Eissa, M. 2007. Urinary tract infection and adverse outcome of pregnancy. The Journal of the Egyptian Public Health Association, 82(3-4): 203-218.

Dougnon, V., Assogba, P., Anago, E., Déguénon, E., Dapuliga, C., Agbankpè, J. and Bankolé, H. 2020. Enterobacteria responsible for urinary infections: a review about pathogenicity, virulence factors and epidemiology. Journal of Applied Biology and Biotechnology, 8(1): 1-2.

Drawz, S. M. and Bonomo, R. A. 2010. Three decades of β-lactamase inhibitors. Clinical Microbiology Reviews, 23(1): 160-201.

Drzewiecka, D. 2016. Significance and roles of Proteus spp. bacteria in natural environments. Microbial Ecology, 72(4): 741-758.

Edrees, H. W. and Anbar, A. A. 2020. Prevalence and antibacterial susceptibility of bacterial uropathogens isolated from pregnant women in Sana'a, Yemen. PSM Biological Research, 5(4): 157-165.

El Kholy, A., Baseem, H., Hall, G. S., Procop, G. W. and Longworth, D. L. 2003. Antimicrobial resistance in Cairo, Egypt 1999–2000: a survey of five hospitals. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 51(3): 625-630.

El-Kashif, M. M. L. 2019. Urinary tract infection among pregnant women and its associated risk factors: A cross-sectional study. Biomedical and Pharmacology Journal, 12(4): 2003-2010.

Enogiomwan, F. O. and Ibeh, I. N. 2018. Forward and reverse characterization of the CTX-M genes associated with multi-drug resistant Escherichia coli isolated from pregnant mothers presenting with asymptomatic urinary tract infection in Benin City, Nigeria. Acta Scientific Microbiology, 1(1): 21-24.

Fareed, K., Zaytoun, O. M., Autorino, R., White, W. M., Crouzet, S., Yakoubi, R. and Kaouk, J. H. 2012. Robotic single port suprapubic transvesical enucleation of the prostate (R-STEP): initial experience. BJU International, 110(5): 732-737.

Fareid, M. A. 2012. Frequency and susceptibility profile of bacteria causing urinary tract infections among women. New York Science Journal, 5(2): 72.

Feglo, P. K., Acheampong, D. O. and Gbedema, S. Y. 2010. Prevalence and Antibiogram of Klebsiella species recovered from clinical samples at Komfo Anokye Teaching hospital in Ghana. Journal of Clinical Research Letters, 1(2): 4-8.

Fey, P. D. and Olson, M. E. 2010. Current concepts in biofilm formation of Staphylococcus epidermidis. Future Microbiology, 5(6): 917-933.

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.

Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. R. and Manual, B. S. 2005. Systematic bacteriology. The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria, Bergey's Manual Trust, Department of Microbiology and Molecular Genetics, 2.

Gayathree, L., Shetty, S., Deshpande, S. R. and Venkatesha, D. T. 2010. Screening for asymptomatic bacteriuria in pregnancy: An evaluation of various screening tests in Hassan District Hospital, India. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 4(4): 2702-6.

Gill, H. S. 2010. Evaluating the efficacy of tryptophan fluorescence and absorbance as a selection tool for identifying protein crystals. Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 66(3): 364-372.

Girishbabu, R. J., Srikrishna, R. and Ramesh, S. T. 2011. Asymptomatic bacteriuria in pregnancy. International Journal of Biological & Medical Research, 2(3): 740-2.

Gladwin, M., Trattler, W. and Mahan, C. S. 2014. Clinical microbiology made ridiculously simple. Medmaster Ridiculously Simple, 403 page, California.

Goldar, S., Khaniani, M. S., Derakhshan, S. M. and Baradaran, B. 2015. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 16(6): 2129-2144.

Grabe, M., Bishop, M., Bjerklund-Johansen, T., Botto, H., Çek, M., Lobel, B. and Tenke, P. 2008. Management of urinary and male genital tract infections. Update, 5: 47-60.

Gross, I., Gordon, O., Benenson, S., Abu Ahmad, W., Shimonov, A., Hashavya, S. and Eventov-Friedman, S. 2018. Using anaerobic blood cultures for infants younger than 90 days rarely showed anaerobic infections but increased yields of bacterial growth. Acta Paediatrica, 107(6): 1043-1048.

Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J. and Wang, Y. 2020. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in Staphylococcus aureus. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 10: 107.

Haider, G., Zehra, N., Munir, A. A. and Haider, A. 2010. Risk factors of urinary tract infection in pregnancy. JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association, 60(3): 213.

Hamida, R. S., Abdelmeguid, N. E., Ali, M. A., Bin-Meferij, M. M. and Khalil, M. I. 2020. Synthesis of silver nanoparticles using a novel cyanobacteria Desertifilum sp. extract: their antibacterial and cytotoxicity effects. International Journal of Nanomedicine, 15: 49.

Hanssen, A. M., Kjeldsen, G. and Sollid, J. U. E. 2004. Local variants of Staphylococcal cassette chromosome mec in sporadic methicillin-resistant Staphylococcus aureus and methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci: evidence of horizontal gene transfer?. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48(1): 285-296.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Stanley, J. T. and Williams, S. T. 1994. Bergeys manual of determinative bacteriology. Wiliams and Wilkins, Baltimore, 787 page, New York.

Hooton, T. M. 2000. Pathogenesis of urinary tract infections: An update. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 46(suppl_1): 1-7.

Hossain, M. G., Saha, S., Rahman, M. M., Singha, J. K. and Mamun, A. A. 2013. Isolation, identification and antibiogram study of Pseudomonas aeruginosa from cattle in Bangladesh. Journal of Veterinary Advances, 3(7): 180-185.

Iseri, E., Biggel, M., Goossens, H., Moons, P. and Van Der Wijngaart, W. 2020. Digital dipstick: miniaturized bacteria detection and digital quantification for the point-of-care. Lab on a Chip, 20(23): 4349-4356.

Jabbar, A. H. and Alramahy, S. K. 2017. Prevalence of CTX-M beta-lactamase of Pseudomonas aeruginosa in Al-Diwaniya City. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 9(2): 56-61.

Johansen, T. E. B. and Naber, K. G. 2015. Antibiotics and urinary tract infections. MDPI AG-Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 457 page, Basel.

Jondle, C. N., Gupta, K., Mishra, B. B. and Sharma, J. 2018. Klebsiella pneumoniae infection of murine neutrophils impairs their efferocytic clearance by modulating cell death machinery. PLoS Pathogens, 14(10): e1007338.

Kennedy, S. H., Giacobbe, P., Rizvi, S. J., Placenza, F. M., Nishikawa, Y., Mayberg, H. S. and Lozano, A. M. 2011. Deep brain stimulation for treatment-resistant depression: follow-up after 3 to 6 years. American Journal of Psychiatry, 168(5): 502-510.

Kitti, T., Seng, R., Thummeepak, R., Boonlao, C., Jindayok, T. and Sitthisak, S. 2019. Biofilm formation of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from clinical samples in Northern Thailand. Journal of Global Infectious Diseases, 11(3): 112.

Lane, D. R. and Takhar, S. S. 2011. Diagnosis and management of urinary tract infection and pyelonephritis. Emergency Medicine Clinics, 29(3): 539-552.

Leboffe, M. J. and Pierce, B. E. 2019. Microbiology: Laboratory theory and application, essentials. Morton Publishing Company, 427 page, Ontario.

Levinson, S. C. 2016. Turn-taking in human communication–origins and implications for language processing. Trends in Cognitive Sciences, 20(1): 6-14.

Lhwak, N. S. and Abbas, Y. A. 2018. Detection of Extended Spectrum β–Lactmase GeneeCTX-M-1 in Escherchia coli and Klebseilla pneumonia Isolated from Urinary Tract Infection of Pregnant Women in Al-Nassyriah City. University of Thi-Qar Journal of Science, 2(4): 92-96.

Li, X., Xing, Y., Jiang, Y., Ding, Y. and Li, W. 2009. Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens. International Journal of Food Science and Technology, 44(11): 2161-2168.

Lin, C. T., Chen, Y. C., Jinn, T. R., Wu, C. C., Hong, Y. M. and Wu, W. H. 2013. Role of the cAMP-dependent carbon catabolite repression in capsular polysaccharide biosynthesis in Klebsiella pneumoniae. PLoS One, 8(2): e54430.

MacFaddin, J. F. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Médica Panamericana, 3453 page, Madrid.

Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G. and Monnet, D. L. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology and Infection, 18(3): 268-281.

Mandal, S. and Halder, D. 2018. Exploring Anti-Klebsiella pneumoniae activity of probiotic lactobacilli of curd origin. Acta Scientific Microbiology, 1(4): 49-53.

Megrian, D., Taib, N., Witwinowski, J., Beloin, C. and Gribaldo, S. 2020. One or two membranes? Diderm Firmicutes challenge the Gram-positive/Gram-negative divide. Molecular Microbiology, 113(3): 659-671.

Mendelson, M., Dar, O. A., Hoffman, S. J., Laxminarayan, R., Mpundu, M. M. and Røttingen, J. A. 2016. A global antimicrobial conservation fund for low-and middle-income countries. International Journal of Infectious Diseases, 51: 70-72.

Moradigaravand, D., Martin, V., Peacock, S. J. and Parkhill, J. 2017. Evolution and epidemiology of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae in the United Kingdom and Ireland. MBio, 8(1): e01976-16.

Moyo, S. J., Aboud, S., Kasubi, M., Lyamuya, E. F. and Maselle, S. Y. 2010. Antimicrobial resistance among producers and non-producers of extended spectrum beta-lactamases in urinary isolates at a tertiary Hospital in Tanzania. BMC research Notes, 3(1): 1-5.

Nahar, S. J., Khanum, H. and Shimasaki, K. 2010. Occurrence of Escherichia coli infection among the women of Dhaka city. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 5: 68-73.

Najar, M. S., Saldanha, C. L. and Banday, K. A. 2009. Approach to urinary tract infections. Indian Journal of Nephrology, 19(4): 129.

Ngalani, O. J. T., Marbou, W. J. T., Mbaveng, A. T. and Kuete, V. 2020. Resistance Profiles of Staphylococcus aureus and Immunological Status in Pregnant Women at Bafang, West Region of Cameroon: A Cross-Sectional Study. Cureus, 12(6).

Nugent, R., Back, E. and Beith, A. 2010. The race against drug resistance. Washington (DC): Center for Global Development, 116.

Obiogbolu, C. H., Okonko, I. O., Anyamere, C. O., Adedeji, A. O., Akanbi, A. O., Ogun, A. A. and Faleye, T. O. C. 2009. Incidence of urinary tract infections (UTIs) among pregnant women in Akwa metropolis, Southeastern Nigeria. Scientific Research and Essays, 4(8): 820-824.

Okonko, I. O., Ijandipe, L. A., Ilusanya, O. A., Donbraye-Emmanuel, O. B., Ejembi, J., Udeze, A. O. and Nkang, A. O. 2009. Incidence of urinary tract infection (UTI) among pregnant women in Ibadan, South-Western Nigeria. African Journal of Biotechnology, 8: 6649-6657

Orrett, F. A. and Davis, G. K. 2006. A comparison of antimicrobial susceptibility profile of urinary pathogens for the years, 1999 and 2003. West Indian Medical Journal, 55(2): 95.

Paul, S. I., Rahman, M. M., Salam, M. A., Khan, M. A. R. and Islam, M. T. 2021. Identification of marine sponge-associated bacteria of the Saint Martin's island of the Bay of Bengal emphasizing on the prevention of motile Aeromonas septicemia in Labeo rohita. Aquaculture, 545: 737156.

Peerayeh, S. N., Mahabadi, R. P., Toupkanlou, S. P. and Siadat, S. D. 2014. Diversity of β-lactamases produced by imipenem resistant, Pseudomonas aeruginosa isolates from the bloodstream. Burns, 40(7): 1360-1364.

Peleg, A. Y. and Hooper, D. C. 2010. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. New England Journal of Medicine, 362(19): 1804-1813.

Pfaller, M. A. and Segreti, J. 2006. Overview of the epidemiological profileand laboratory detection of extended-spectrum β-Lactamases. Clinical Infectious Diseases, 42(4): 153-163.

Piatek, J., Bernatek, M., Ciechelska-Rybarczyk, A., Oleskow, B. and Sommermeyer, H. 2019. Inhibition of carbapenem-resistant ndm-1 Klebsiella pneumoniae isolated from a Hospital outbreak patient by a synbiotic: A nonantibiotic treatment option. International Journal of Medical Research and Health Sciences, 8(9): 12-20.

Podschun, R. and Ullmann, U. 1998. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clinical Microbiology Reviews, 11(4): 589-603.

Porta, A. R. and Enners, E. 2012. Determining annealing temperatures for polymerase chain reaction. The American Biology Teacher, 74(4): 256-260.

Prakash, J. 2012. The kidney in pregnancy: A journey of three decades. Indian Journal of Nephrology, 22(3): 159.

Ranjan, A., Sridhar, S. T. K., Matta, N., Chokkakula, S. and Ansari, R. K. 2017. Prevalence of UTI among pregnant women and its complications in newborns. Indian Journal of Pharmacy Practice, 10(1): 45-49.

Rotondo, C. M. and Wright, G. D. 2017. Inhibitors of metallo-β-lactamases. Current Opinion in Microbiology, 39: 96-105.

Roy, H., Dare, K. and Ibba, M. 2009. Adaptation of the bacterial membrane to changing environments using aminoacylated phospholipids. Molecular Microbiology, 71(3): 547-550.

Saffar, M. J., Enayti, A. A., Abdolla, I. A., Razai, M. S. and Saffar, H. 2008. Antibacterial susceptibility of uropathogens in 3 hospitals, Sari, Islamic Republic of Iran, 2002-2003. EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal, 14 (3): 556-563, 2008.

Salvatore, S., Salvatore, S., Cattoni, E., Siesto, G., Serati, M., Sorice, P. and Torella, M. 2011. Urinary tract infections in women. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology, 156(2): 131-136.

Santos, S. R., Taylor, D. J., Kinzie Iii, R. A., Hidaka, M., Sakai, K. and Coffroth, M. A. 2002. Molecular phylogeny of symbiotic dinoflagellates inferred from partial chloroplast large subunit (23S)-rDNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 23(2): 97-111.

Sarathbabu, R., Ramani, T. V., Rao, K. B. and Panda, S. 2012. Antibiotic susceptibility pattern of Klebsiella pneumoniae isolated from sputum, urine and pus samples. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 1(2): 4-9.

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

Schnarr, J. and Smaill, F. 2008. Asymptomatic bacteriuria and symptomatic urinary tract infections in pregnancy. European Journal of Clinical Investigation, 38: 50-57.

Schroeder, M., Brooks, B. D. and Brooks, A. E. 2017. The complex relationship between virulence and antibiotic resistance. Genes, 8(1): 39.

Sharma, J., Sharma, M. and Ray, P. 2010. Detection of TEM and SHV genes in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates in a tertiary care hospital from India. Indian Journal of Medical Research, 132(3): 332-337.

Sharma, T., Velmurugan, N., Patel, P., Chon, B. H. and Sangwai, J. S. 2015. Use of oil-in-water pickering emulsion stabilized by nanoparticles in combination with polymer flood for enhanced oil recovery. Petroleum Science and Technology, 33(17-18): 1595-1604.

Shi, X. F., Wang, M. M., Huang, S. C., Han, J. X., Chu, W. C., Xiao, C. and Qin, S. 2019. H2depda: an acyclic adjuvant potentiates meropenem activity in vitro against metallo-β-lactamase-producing enterobacterales. European Journal of Medicinal Chemistry, 167: 367-376.

Simon-Oke, I., Odeyemi, O. and Afolabi, O. J. 2019. Incidence of urinary tract infections and antimicrobial susceptibility pattern among pregnant women in Akure, Nigeria. Scientific African, 6: e00151.

Sinha, B., Francois, P., Que, Y. A., Hussain, M., Heilmann, C., Moreillon, P. and Herrmann, M. 2000. Heterologously expressed Staphylococcus aureus fibronectin-binding proteins are sufficient for invasion of host cells. Infection and Immunity, 68(12): 6871-6878.

Spadafino, J. T., Cohen, B., Liu, J. and Larson, E. 2014. Temporal trends and risk factors for extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in adults with catheter-associated urinary tract infections. Antimicrobial Resistance and Infection control, 3(1): 1-4.

Subramanian, M., Ganesapandian, S., Singh, M. and Kumaraguru, A. 2011. Antimicrobial susceptibility pattern of urinary tract infection causing human pathogenic bacteria. Asian Journal of Medical Sciences, 3(2): 56-60.

Sudhakar, T., Karpagam, S. and Premkumar, J. 2015. Biosynthesis, antibacterial activity of pyocyanin pigment produced by Pseudomonas aeruginosa SU1. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(3): 921-924.

Sun, Y., Wen, S., Zhao, L., Xia, Q., Pan, Y., Liu, H. and Wang, H. 2020. Association among biofilm formation, virulence gene expression, and antibiotic resistance in Proteus mirabilis isolates from diarrhetic animals in Northeast China. BMC Veterinary Research, 16(1): 1-10.

Szczuka, E., Krajewska, M., Lijewska, D., Bosacka, K. and Kaznowski, A. 2016. Diversity of staphylococcal cassette chromosome mec elements in nosocomial multiresistant *Staphylococcus haemolyticus* isolates. Journal of Applied Genetics, 57(4): 543-547.

Taye, S., Getachew, M., Desalegn, Z., Biratu, A. and Mubashir, K. 2018. Bacterial profile, antibiotic susceptibility pattern and associated factors among pregnant women with Urinary Tract Infection in Goba and Sinana Woredas, Bale Zone, Southeast Ethiopia. BMC Research Notes, 11(1): 1-7.

Terlizzi, M. E., Gribaudo, G. and Maffei, M. E. 2017. UroPathogenic Escherichia coli (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. Frontiers in Microbiology, 8: 1566.

Thenmozhi, S., Moorthy, K., Sureshkumar, B. T. and Suresh, M. 2014. Antibiotic resistance mechanism of GSBL producing Enterobacteriaceae in clinical field: a review. International Journal of Pure and Applied Bioscience, 2(3): 207-26.

Tschudin-Sutter, S., Frei, R., Dangel, M., Stranden, A. and Widmer, A. F. 2012. Rate of transmission of extended-spectrum beta-lactamase–producing Enterobacteriaceae without contact isolation. Clinical Infectious Diseases, 55(11): 1505-1511.

Turay, A. A., Eke, S. O., Oleghe, P. O. and Ozekhome, M. C. 2014. The prevalence of urinary tract infections among pregnant women attending antenatal clinic at Ujoelen primary health care centre, Ekpoma, Edo state, Nigeria. International Journal of Basic, Applied and Innovative Research, 3(3): 86-94.

Turton, J. F., Perry, C., Elgohari, S. and Hampton, C. V. 2010. PZR characterization and typing of Klebsiella pneumoniae using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets. Journal of Medical Microbiology, 59(5): 541-547.

Tzika, E., Ferrara, D., Boehncke, W. H., Trellu, L. T. and Barouti, N. 2015. Surinfectionde plaie chronique par Pseudomonas aeruginosa. Revue Médicale Suisse, 11: 768-72.

Waddell, T. K., Dart, A. M., Gatzka, C. D., Cameron, J. D. and Kingwell, B. A. 2001. Women exhibit a greater age-related increase in proximal aortic stiffness than men. Journal of Hypertension, 19(12): 2205-2212.

Wayne, P. M., Walsh, J. N., Taylor-Piliae, R. E., Wells, R. E., Papp, K. V., Donovan, N. J. and Yeh, G. Y. 2014. Effect of Tai Chi on cognitive performance in older adults: Systematic review and meta-Analysis. Journal of the American Geriatrics Society, 62(1): 25-39.

Widerström, M., Wiström, J., Sjöstedt, A. and Monsen, T. 2012. Coagulase-negative staphylococci: update on the molecular epidemiology and clinical presentation, with a focus on Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus saprophyticus. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 31(1): 7-20.

Wright, G. D. 2005. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. Advanced Drug Delivery Reviews, 57(10): 1451-1470.

Yan, B., Chu, H., Yang, D., Sze, K. H., Lai, P. M., Yuan, S. and Yuen, K. Y. 2019. Characterization of the lipidomic profile of human coronavirus-infected cells: implications for lipid metabolism remodeling upon coronavirus replication. Viruses, 11(1): 73.

Yoo, I. Y., Kang, O. K., Shim, H. J., Huh, H. J. and Lee, N. Y. 2020. Linezolid resistance in methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Korea: High rate of false resistance to linezolid by the VITEK 2 system. Annals of Laboratory Medicine, 40(1): 57-62.

Younes, A. E. G. M. 2011. Molecular diversity and genetic organization of antibiotic resistance in Klebsiella species. PhD. thesis, University of Edinbourgh, 246 page, Edinbourgh.

Yu, W., He, Z. and Huang, F. 2015. Multidrug-resistant Proteus mirabilis isolated from newly weaned infant Rhesus monkeys and Ferrets. Jundishapur Journal of Microbiology, 8(6): e16822.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Muqdad Jabbar Ali AL-RIKABI

### Eğitim

| | | |
|---|---|---|
| Yüksek Lisans | Çankırı Karatekin Üniversitesi<br>Fen Bilimleri Enstitüsü<br>Biyoloji Anabilim Dalı | 2020-Halen |
| Lisans | Muthanna Üniversitesi<br>Bilim Fakültesi<br>Biyoloji Bölümü | 2008-2012 |