ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSHALLİ ÇOCUKLARDA *CNF* 1,2 VE *EAEA* GENİ İLE İLİŞKİLİ ESCHERİCHİA *COLİ SEROTİPİ*

Ali Jabber Jiwar AL-SHIERAWEE

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ali Jabbar Jiwar AL-SHIERAWEEtarafından hazırlanan **"İshalli Çocuklarda *CNf* 1,2 ve *eaeA* Geni İle İlişkili *EscherichiaColi Serotipi*"** adlı tez çalışması 01/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Kemal YAZGAN

Eş Danışman :Dr. Öğr. Üyesi Zahrah Adnan AL-SHAMMARRI

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Kemal YAZGAN
Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Oral DÜZDEMİR
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Prof Dr. Nilüfer CİHANGİR
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü
Hacettepe 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 "**İshalli Çocuklarda *CNf* 1,2 ve *eaeA* Geni İle İlişkili *EscherichiaColi Serotipi***" 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 (01/07/2022).

Ali Jabbar Jiwar AL-SHIERAWEE

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İSHALLİ ÇOCUKLARDA *CNF* 1,2 VE *EAEA* GENİ İLE İLİŞKİLİ ESCHERİCHİA *COLİ SEROTİPİ*

Ali Jabbar Jiwar AL-SHIERAWEE

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Kemal YAZGAN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Zahrah Adnan AL-SHAMMARRI

Escherichia coli (*E. coli*), insanların ve sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarında yaygın olarak bulunmaktadır. Maysan eyaletinde çocuklarda görülen yaygın ishal vakalarına neden olan *E. coli* türlerinin serotipleri ve antibiyotiklere dirençlerinin belirlenerek bunların demografik dağılımlarının ortaya koyulması. Maysan ilinde çocuklarda ishal enfeksiyonuna neden olan *E. coli* serotipinin tespiti. Virulence genleri CNf 1,2 ve *eaeA* geni ile ilgili *E. coli* serotipi. Yaş, yerleşim yeri, cinsiyet, emzirme, biberonla besleme, diş çıkarma, ebeveynlerin eğitimi, ishal türleri gibi *E. coli* serotipi ile ilişkili sosyoekonomik faktörlerin belirlenmesi tespiti çiğ veya az pişmiş kıyma ürünleri, çiğ süt, kontamine çiğ sebzeler ile filizler gibi kontamine gıdaları yiyerek enfekte olmaktadırlar. O157:H7 serotipi birçok ülkede en yaygın EHEC patojenleri olmasına rağmen, özellikle O157:H7O serogrubu dahil olmak üzere çok sayıda ek serotip hastalığa neden olur ve diğer *E. coli* serotiplerinden daha yaygındır. Bu çalışma Şubat 2022'den Nisan 2022'ye kadar yürütülmüştür. Çalışmanın materyalini Maysan Valiliğindeki hastanelere ishal nedeniyle başvurmuş çocuklardan elde edilen 150 adet örnek oluşturmuştur. süresince, Maysan Valiliği'ndeki Hastaneye ziyaretleri sırasında çocuklarda ishal enfeksiyonundan 150 örnek toplanmıştır. Bu araştırmadan elde edilen bulgulara göre; izole edilen serotipler antibiyotiklere Nitrofurantoin, Sulfa-Trimetoprim, Piperacillin, Cephazolin ve Ertapenem antibiyotik çeşitlerine sırasıyla %64, %64, %42, %42 düzeyinde direnç göstermişlerdir. Virülans faktörlerini kodlayan genlerin varlığı, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak belirlenmiştir. PCR, 38(%76) izolatın *E. coli* teşhisi için evrensel bir gen olarak 16rRNA genine sahip olduğunu, 28'i (%56) *E. coli* O157 serotipine, 40'ı (%80) CNF1 genine ve 38'i (%76) *eaeA* genine sahiptir.

2022, 49 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *E. coli*, Serotype of *E. coli*, Diarrheal infection, CNf 1,eae gene

ABSTRACT

Master of Science Thesis

SEROTYPE OF *ESCHERICHIA COLI RELATED* WITH CNF 1,2 AND *EAEA* GENE IN DIARRHEAL CHILDREN

Ali Jabbar Jiwar AL-SHIERAWEE

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

Advisor: Asst. Prof. Dr. Yaşar Kemal YAZGAN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Zahrah Adnan AL-SHAMMARRI

Escherichia coli (*E. coli*) is widely found in the guts of humans and warm-blooded animals. Humans get infected by eating contaminated foods like as raw or undercooked ground beef products, raw milk, and contaminated raw vegetables and sprouts. Although O157:H7 serotype are the most common EHEC pathogens in several countries, numerous additional serotypes, especially including that of the O157:H7O serogroup, which cause disease and are more prevalent than from other *E. coli* serotypes. This study was conducted from February 2022 to April 2022. During the study period, were collected 150 samples from diarrhea infection in children during their visit to Hospital in Maysan Governorate. According to the findings of this study, the antibiotics Nitrofurantoin, Sulfa-Trimethoprim, Piperacillin, Cephazolin, and Ertapenem had the highest resistance to antibiotics at 64%, 64%, 42%, 42% respectively. The presence of genes encoding virulence factors was determined using polymerase chain reaction (PCR). PCR revealed that 38(76%) isolates had the 16rRNA gene as a universal gene for *E. coli* diagnosis, while 28(56%) had the *E. coli* O157 serotype, 40(80%) had the CNF1 gene, and 38(76%) had the *eaeA* gene.

2022, 49 pages

Keywords: *E. coli*, Serotype of *E. coli*, Diarrheal infection, CNf 1,eae gene

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Kemal YAZGAN'e sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Ali Jabbar Jiwar AL-SHIERAWEE
Çankırı, Temmuz 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 *Escherichia Coli*'nin Arka Planı **3**
2.1.1 *Escherichia coli*'nin özellikleri **3**
2.2 *Escherichia Coli*'nin Virülans Faktörleri **6**
2.2.1 Kapsül **7**
2.2.2 Biyofilm **8**
2.2.3 Kolisin proteini **8**
2.2.4 Pil **8**
2.3.1 Sitotoksik nekrotizan faktör 1 (CNF1) ve sitotoksik nekrotizan faktör 2 (CNF2) **9**
2.3.2 *Escherichia coli* bağlama ve silme geni (*eaeA*) **9**
2.4 *Escherichia Coli*'nin Patojenitesi **10**
2.5 *EscherichiaColi Epidemiyolojisi* **12**
2.6 *Escherichia Coli*'nin Tedavisi **12**
2.7 *Escherichia Coli* Teşhisi **14**
3. MATERYAL VE METOT **15**
3.1 Materyal **15**
3.1.1 Çalışma tasarımı **15**
3.1.2 Ekipman ve aparatlar **15**
3.2 Yöntemler **16**
3.2.1 Kültür besiyerinin hazırlanması **16**

3.2.2 Bakteriyel suşlar ve numunelerin toplanması....17
3.2.4 Mikroskobik tanımlama....18
3.2.5 Biyokimyasal tanımlama....18
3.2.6 Vitek2 sistemini kullanarak....19
3.2.7 Moleküler biyolojik çalışmalar....19
4. BULGULAR VE TARTIŞMA....23
4.1 Çalışma Örneğinin Tanımı....23
4.2 Dağılım Yaş (yıl) Grubu ve Cinsiyet....23
4.3 Klinik Semptomlara Göre Dağılım....26
4.4 Tanı Yöntemlerine Göre Dağılım....26
4.6 Moleküler Biyoloji Çalışmaları....28
5. SONUÇLAR....33
KAYNAKLAR....34
EKLER....45
ÖZGEÇMİŞ....49

SİMGELER DİZİNİ

-	Eksi
%	Yüzde
/	Taksim
+	Artı
dL	Desilitre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
m^2	Metrekare
mcg	Mikrogram
min	Dakika
mL	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
rpm	Dakikadaki devir sayısı
µL	Mikro litre

KISALTMALAR DİZİNİ

BHI	Beyin kalp infüzyonu
CNF1	Sitotoksik nekrotizan faktör 1
CNF2	Sitotoksik nekrotizan faktör 1
CNFs	Sitotoksik nekrotizan faktörler
EAEC	*Enteroagregatif E. coli*
EHEC	*Enterohemorajik E. coli*
EIEC	*Enteroinvaziv E. coli*
EMB	Eozin metilen mavisi
EPEC	*Enteropatojenik E. coli*
ETEC	*Enterotoksijenik E. coli*
ExPEC	Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli*
ExPEC	Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli*
ExPEC	Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli*
FDH	Format dehidrojenazlar
PAI	Patojenite adalarında
STEC	Shiga toksini üreten *E. coli*
UPEC	Idrar yolu enfeksiyonlarınınEMPP Embden–Meyerhof–Parnas pathwayEDP Entner Doudoroff pathway

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Aletler ve aparatlar 15
Şekil 3.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler..... 16
Şekil 4.1 16s RNA geninin (1250bp) PCR ürünü. Ürün, 5 volt/cm2'de %1,5 agaroz üzerinde elektroforezdi. 1:30 saat boyunca 1x TBE tamponu. M: DNA merdiveni (100) 29
Şekil 4.2 *E. coli* O157 serotipinin pozitif PCR ürünü. Şeritler (1,3,4,5,10,12,14,15,16, 20,24)..... 29
Şekil 4.3 CNF1 geninin pozitif PCR ürünü. Şeritler (1, 10, 12, 15, 16)..... 30
Şekil 4.4 *eaeA* geninin pozitif PCR ürünü. Şeritler (1, 4, 10, 14, 15, 16) 30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Bu çalışmayı kullanan primerlerin dizisi 20
Çizelge 3.2 Maxime PCR PreMix kitinin (i-Taq) bileşenleri 21
Çizelge 3.3 PCR'nin reaksiyon bileşenleri 21
Çizelge 3.4 16rRNA Geninin PCR Döngü Programı 21
Çizelge 3.5 O157 Geninin PCR döngü programı 21
Çizelge 3.6 CNF1 Geninin PCR Döngü Programı 21
Çizelge 3.7 *eaeA* geninin PCR döngü programı 22
Çizelge 4.1 Anne Eğitimi ve Yurtlara Göre Dağılım Yaş (yıl) grubu ve cinsiyet 24
Çizelge 4.2 Yaş, cinsiyet, anne eğitimi ve konutlar için %95 güven aralığının üst sınırı ve alt sınırı 24
Çizelge 4.3 İshalli 150 çocuğun klinik belirtileri 26
Çizelge 4.4 Farklı *E. coli* tanı yöntemlerinden yüzde dağılımı 26
Çizelge 4.5 *E. coli* izolatının antibiyotik direnç yüzdeleri 28
Çizelge 4.6 16s rRNA, *E. coli* O157 serotip, CNF1 ve *eaeA* genlerine göre çocuklarda diyare enfeksiyonunda *E. coli* izolatlarının g yüzdesi 28

1. GİRİŞ

Escherichia coli, sıcak kanlı türlerden barsakların alt kısmında yaşayan çubuk şeklinde, Gram negatif, fakültatif olarak anaerobik bir koliform bakteridir. *E. coli* suşlarının çoğu zararsız olmasına rağmen, birkaç serotip konakçılarında ciddi gıda zehirlenmesine neden olabilir. Bunlar üretimin geri çekilmesine neden olan gıda kontaminasyonu salgınlarıyla bağlantılıdır (Jang *et al.* 2017).

Bağırsak mikrobiyotasında, zararsız suşlar yaygındır. K2 vitamini oluşturarak konakçılarına yardımcı olabilir ve ayrıca patojenik bakterilerin bağırsağa yerleşmesini önleyerek karşılıklı bir bağlantıya yol açabilirler. *E. coli* dışkı yoluyla bağırsaklara yayılır. Bakteri üç gün boyunca aerobik koşullar altında yeni dışkıda hızla çoğalır, daha sonra giderek azalır (Gou *et al.* 2018).

Bakterilerin yaklaşık yüzde 0,1'i, bağırsak mikro biyotasındaki diğer fakültatif anaerobların yanı sıra *E. coli*'dir. Patojenik *E. coli* suşlarının hastalığı yayması için en yaygın mekanizma fekal-oral bulaşmadır (Passmore *et al.* 2018).

Hücreler vücut dışında yalnızca kısa bir süre hayatta kalabildiklerinden, çevresel örneklerde fekal kontaminasyonu değerlendirmek için kullanılabilirler. Çevresel olarak, sürekli *E. coli* artan araştırmaların odak noktasıdır (Gui *et al.* 2017).

Bakteri bir laboratuvarda kolayca ve ucuza büyütülerek kültürlenebilir. Bu bakteri üzerinde 60 yılı aşkın bir süredir yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. *E. coli* kemoheterotrofik bir bakteridir. Kimyasal olarak belirlenmiş habitatında hayatta kalabilmek için bir karbon ve enerji kaynağına ihtiyaç duyar. *E. coli*, rekombinant DNA araştırmalarının çoğunluğu için konakçı organizma olarak hareket ettiği için önemli bir türdür (Mikkola *et al.* 2015).

1.1 Çalışmanın Amacı

Maysan eyaletinde çocuklarda görülen yaygın ishal vakalarına neden olan *E. coli* türlerinin serotipleri ve antibiyotiklere dirençlerinin belirlenerek bunların demografik dağılımlarının ortaya koyulması.

Bu çalışmanın amacına ulaşmak için aşağıdaki hedefler belirlenerek bu alanlarda çalışmalar gerçekleştirilmiştir:

1. Maysan ilinde çocuklarda ishal enfeksiyonuna neden olan *E. coli* serotipinin tespiti.
2. Virulence genleri CNf 1, 2 ve *eaeA* geni ile ilgili *E. coli* serotipi. tespiti
3. Yaş, yerleşim yeri, cinsiyet, emzirme, biberonla besleme, diş çıkarma, ebeveynlerin eğitimi, ishal türleri gibi *E. coli* serotipi ile ilişkili sosyoekonomik faktörlerinbelirlenmesi

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Escherichia Coli*'nin (Tarihçesi)

Alman-Avusturyalı bir doktor olan Theodor Escherich, bu bakterileri 1885 yılında sağlıklı insanların dışkısında tanımlamıştır. *Bacteriumcoli commune*, kolonda bulunduğu için ona bu ismi vermiştir. Prokaryotlar önce morfolojilerine ve hareketliliklerine göre (Ernst Haeckel Monera sınıflandırma sistemine göre) bazı cinslere ayrılmıştır (Lazcano and Peretó 2017). Eski tip türlerin (*Bacterium triloculare*) bulunmadığı keşfedildiğinde, artık nesli tükenmiş olan *Bacterium* cinsine *Bacterium coli* adı verilmiştir (Joseph and Apondi 2018).

1895 yılında Migula, *Bacterium*'dan yaptığı bir incelemeden sonra onu *Bacillus coli* olarak sınıflandırmış, ardından *Escherichia*'nın adını bulanının adını taşıyan yeni kurulmuş bir cins olarak yerleştirmiştir. 1996 yılında İskoçya'nın Wishaw kentinde, dünyanın en büyük *E. coli* gıda kaynaklı hastalık salgınından 21 kişiyi etkilenmiştir (Muktar *et al.* 2015). Almanya'da, organik çemen filizleriyle bağlantılı bir *E. coli* O104:H4 salgını 2011'de 53 kişinin ölümüne yol açmıştır (Kampmeier *et al.* 2018).

2.1.1 *Escherichia coli*'nin özellikleri

E. coli, spor oluşturmayan bir morfolojiye sahip Gram-negatif, fakültatif anaerob, koliform bakteridir. Sindirim sisteminin ötesinde antibiyotikler *E. coli* hastalıklarını ve çoğu bağırsak enfeksiyonunu tedavi edebilir. Bakterilerin yüzmesine izin veren flagella, pleomorfik bir düzende gruplandırılmıştır. O da Intimin adı verilen bir yapışma proteini aracılığıyla her iki bağırsağın mikrovilluslarına yapışır ve onları yok eder (Vizsnyiczai *et al.* 2020).

E. coli, anaerobik koşullarda laktat, süksinat, etanol, asetat ve CO_2 oluşturmak için bir asit karışımı ile substratlar ve fermentlerden geniş bir yelpazede gelişebilir, *E. coli* metanojenler veya sülfat indirgeyen bakteriler gibi hidrojen tüketen türlerle birlikte

yaşadığında düşük hidrojen seviyeleri, birkaç karışık asit fermantasyon yönteminin hidrojen gazı ile sonuçlanması gerçeği vardır (Yang *et al.* 2020). Bu zorunlu heterotrofik metabolizma, heterolog eksprese eden karbon fiksasyon genleri ve format dehidrojenazlar (FDH) ile laboratuvar evrim çalışmaları yapılarak ototrofik yeteneklere dönüştürülebilir. Bu, elektron taşıyıcılarını formatla indirerek ve bu sentetik ototroflarda aerobik metabolizma için gerekli ATP'yi sağlayarak gerçekleştirilir (Nybo *et al.* 2015).

E. coli'nin doğal glikolitik yolları EMPP, the Entner Doudoroff pathway (EDP) ve OPPP'dir. EDP'nin glikoz metabolizması için üç yoldan termodinamik olarak en faydalı olmasına rağmen, *E. coli* bunun yerine EMPP ve OPPP'yi kullanmayı tercih eder. EDP, glukonat üzerinde büyütülmediği sürece esas olarak etkin değildir (Abernathy *et al.* 2017).

Katabolize baskılama, bakterilerin şekerlerden bir dizi varlık geliştirirken sırayla şekerleri sindirdiği bir işlemdir. Daha az arzu edilen şekerlerin metabolize edilmesine katkıda bulunan genlerin ekspresyonunu bloke ederek, hücreler genellikle ilk önce en büyük büyüme oranını üreten şekeri, ardından bir sonraki en büyük artışı üreten şekeri alır (Gleizer *et al.* 2019).

Sonuç olarak, iyileşme hızlarını en üst düzeye çıkarmak için hücreler, sınırlı metabolik kaynaklarının tam potansiyellerinde kullanılmasını sağlar. Örneğin, bakterinin glikoz ve laktoz üzerindeki büyümesi, önce glikoz ve ikinci olarak laktoz tüketen *E. coli*'den iyi bilinen bir örnektir (Cubas-Cano *et al.* 2018).

Arabinoz ve ksiloz gibi ek glikoz olmayan şekerlerin varlığında, *E. coli'*de katabolit baskılanması da görülmüştür. *E. coli*'de glukoz emilimini ve metabolizmasını birbirine bağlayan bir multi-protein fosforilasyon kaskadı olan fosfotransferaz sistemi, glukoz katabolit baskılanmasını organize eder. *E. coli* yaklaşık 37 santigrat derece (98,6 derece Fahrenhayt) sıcaklıklarda gelişirken, bazı laboratuvar suşlarının 49 santigrat ^{o}C (120 °F) kadar sıcaklıklarda geliştiği görülmüştür (Okano *et al.* 2021).

E. coli fakültatif bir anaerob olmasına rağmen oksijen eksikliğinde hayatta kalabilir. Oksijen bulunduğunda ve hazır olduğunda kullanılır. Ayrıca oksijenin yokluğunda fermentasyon veya anaerobik solunum yoluyla gelişmeye devam edebilir (Johnson and Hug 2019). Bakteriler, suyun baskın olduğu ortamlarda hayatta kalma şanslarını arttırdığı için oksijen yokluğunda büyüme yeteneğinden yararlanır (Muhammad *et al.* 2020).

Bakteri hücre döngüsünün üç aşaması vardır. B fazı, hem hücre bölünmesinin sonucu hem de DNA replikasyonunun başlaması arasında gerçekleşir. Kromozomal DNA'nın eşlenmesi için geçen süreye C periyodu denir. D fazı, DNA replikasyonunun bitişi ile hücre bölünmesinin başlangıcı arasındaki zamanı gösterir (Marchal *et al.* 2019).

E. coli, iki katına çıkma süresi C ve D periyotlarının toplamından daha az olduğunda, C ve D periyotlarının uzunluklarının değişmeden kalması şartıyla daha fazla besin olduğunda boyut olarak daha hızlı çoğalır. DNA boyunca birkaç replikasyon çatalı ve örtüşen hücreler, önceki döngüsel replikasyon en hızlı büyüme oranlarında tamamlanmadan önce meydana gelen replikasyondan kaynaklanır (Si *et al.* 2017).

Hızlı büyüyen *E. coli*'deki çoğaltma çatallarından elde edilen sayı esas olarak 2n'dir (n = 1, 2 veya 3). Bu, eşzamanlı çoğaltma olarak tanınır ve yalnızca tüm çoğaltma kaynakları aynı anda çoğaltmaya başladığında gerçekleşir. Bir kültürde, her hücre o anda çoğalmaz. Bu durumda, hücrelerin iki çoğaltma çatalından katları yoktur. DnaA başlatıcıyla ilişkili protein olan DnaA veya DiaA'daki mutasyonlar eşzamansızlığa neden olabilir (Hansen *et al.* 2018).

E. coli ve akrabaları, bakteriyel konjugasyon veya transdüksiyon yoluyla mevcut bir popülasyon içinde DNA'yı yatay olarak iletmelerini sağlayan bir genetik adaptasyona sahiptir. Bakteriyofaj adı verilen bakteriyel bir virüsü kullanan transdüksiyon yöntemi, *E. coli*'den Shiga toksini üreten suş olan *E. coli* O157:H7'nin gelişimine yardımcı olmak için kullanıldı (Rodríguez-Rubio *et al.* 2021).

2.2 *Escherichia Coli*'nin Virülans Faktörleri

E. coli'nin farklı alt tiplerinden patojenite ile ilişkili patojenite faktörleri (VF), sıklıkla patojenite adalarında (PAI'ler), plazmitlerde ve diğer mobil genetik elementlerde kodlanan adezinler, toksinler, demir alıcı ajanlar ve polisakarit kapsülleri içerir (Daga *et al.* 2019).

Enterobacterales'te, en önemli PAI, ağırlıklı olarak bakteriyel durumu veya "fitness maliyetini" iyileştirmek için gerekli olan demir alım sisteminde kodlanan Önemli Patojenite Adası'dır. Direnç ve virülans ile birlikte demir emilimi, bakterilerin oldukça rekabetçi bir ortamda varlığını sürdürmesini sağlayan çok önemli bir hayatta kalma özelliğidir (Bujňáková *et al.* 2021).

Normal yetişkin sığır ve koyunlar STEC için asemptomatik rezervuar görevi görse de, süt ve süt ürünlerinden izole edilen fekal kontamine *E. coli* suşları genellikle Vero veya Shiga toksinlerinden (vtx1 ve vtx2), intimin (*eaeA*) ve hemolizden (hlyA) yüksek miktarlarda içerir. Bakteriyel yapışma ve bağırsak epitel hücrelerine invazyon, bu nedenlerin bir sonucu olarak ciddi yapışma-etkileme (A/E) lezyonlarına neden olabilir (Ranjbar *et al.* 2018).

Çiğ sütte STEC prevalansı, yani O157:H7 serotipi, yaygın olarak tespit edilmiştir. Bu mikroplara sahip midelerin %10'unu kadarında, özellikle çocuklarda, bağışıklığı baskılanmış kişilerde ve yaşlılarda ölümcül olabilen Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS) geliştirdiğinden endişeye neden olur (Jaakkonen *et al.* 2019).

2018'de Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), 14'ü peynir tüketimine bağlı ve 775 kişiyi içeren 5079 gıda kaynaklı salgın tanımladı. STEC ve bakteriyel toksinler bu slagınlarda en yaygın nedensel ajanlar oldu (Bujňáková *et al.* 2021).

Şimdiye kadarki bulgular, gıda araçlarının AB genelinde STEC enfeksiyonlarının yayılmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Şiddetli hastalığa neden olma

potansiyeli olan gıdalarda STEC'in varlığı, tanımlanan STEC suşlarının virülans gen profillerinin incelenmesiyle vurgulanmıştır (Panel *et al.* 2020).

EFSA'ya göre STEC virülans genlerinin araştırılması, moleküler tehlike değerlendirmesinin temelini ve insanlarda STEC enfeksiyonlarından kaynaklanan risk ve ciddiyeti tahmin etmek için en önemli yöntemi sağlar. Gıdaların, özellikle pastörize edilmemiş süt ürünlerinin, son yıllarda Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli* (ExPEC) suşlarından bulaşmada hayati bir rolün yanı sıra, ekstra bağırsak enfeksiyonuna neden olan birçok ek virülans faktörü için bir rezervuar olduğu öne sürülmüştür (Royer *et al.* 2021).

ExPEC, papA genleri (P-fimbriaların yapısal bir alt birimi) ve/veya papC (P fimbriae), sfa/foc (S ve F1C fimbria bileşenleri), afa/dra dahil olmak üzere iki veya daha fazla virülans belirtecine sahip *E. coli* izolatları olarak gösterildi. (adhesin bağlayıcı antijen Dr), kpsMT II (grup 2 kapaklar) Bununla birlikte, patogenez, mukozal dokuları istila eden çok sayıda bakteriyel patojen tarafından sadece belirli bir adhezin üretimine bağlıdır. Bakteriyel bir patojenin belirli bir dokuya bağlanma ve kolonize etme kapasitesi, adezin aracılı reseptör tanımlaması ile bozulduğunda, virülent hale gelir (Sarowska *et al.* 2019).

Çok sayıda patojenik bağırsak ve bağırsak dışı *E. coli* suşunun insanlara bulaşma ve hastalıklara neden olma olasılığı nedeniyle, virülans genlerinin varlığı yoluyla patojenik potansiyellerinin belirlenmesi kritik hale gelmektedir (Sarowska *et al.* 2019).

2.2.1 Kapsül

Kapsül aynı zamanda K-antijeni olarak da bilinir ve *E. coli* bakterilerindeki ana virülans faktörlerinden biridir ve bakteriyi konağın hücresel fagositoz sürecinden korumada önemli bir rol oynar ve konakçı hücrelerde *E. coli* bakterilerinin yayılmasına katkıda bulunan antibiyotiklere direnmek için çalışır (Sachdeva *et al.* 2017).

2.2.2 Biyofilm

Biyofilm, *E. coli* bakterilerinin ilk yapışmasını kolaylaştırmada önemli bir rol oynar ve bu biyofilmlerin oluşumu, çevresel koşullar ile biyofilmlerde salgılanan bazı virülans faktörlerinin, özellikle pili'nin gen ekspresyonu gibi çeşitli faktörlerden etkilenir (Schulze *et al.* 2021).

E. coli'de biyofilm oluşumu için 4 ana adım vardır, bu adımlar aşağıdakileri içerir (Arciola *et al.* 2018):

• İlk yapışma
• Biyofilm yapısının erken gelişimi
• Biyofilmin olgunlaşması
• Stres direnci genlerinin varlığı

2.2.3 Kolisin proteini

E. coli'nin bazı suşları, kolikin sentezi için gerekli genetik belirleyicileri taşıyan kolikinojenik adlı bir plazmit içermeleri nedeniyle, kolisin proteini adı verilen toksik proteinler üretebilmektedir. Bu toksik proteinler, konakçı hücrelerin içerdiği nükleik asitleri (DNA, RNA) etkilemek ve hücrelerin sitoplazmik membranlarında delikler oluşturmak için çalışır (Lechner *et al.* 2016).

2.2.4 Pil

E. coli hücrelerinin konakçı dokuya yapışması başarılı kolonizasyon ve enfeksiyon için ilk adımdır. Bu yapışma genellikle bakterilerin dış zarında 1000'den fazla sarmal protein alt biriminden oluşan uzun çubuklar olan pili ile yapılır. Tip1 pilus, tüm *E. coli* suşlarının en yaygın türüdür. Yapıştırılmış halde önemli bir rol oynayan FimH, Fimf ve FimG dahil olmak üzere üç tip proteinden oluşur (Viela *et al.* 2020).

2.3 *E. coli*'deki Virülans Faktörlerini Kodlayan Genler

2.3.1 Sitotoksik nekrotizan faktör 1 (CNF1) ve sitotoksik nekrotizan faktör 2 (CNF2)

E. coli'de bu genler, CNF1, CNF12 ve CNF1,2'yi içeren dermonekrotik toksinler ailesinin üyeleridir, ancak daha yaygın olarak ishalli çocukların dışkılarından elde edilen izolatlarda bulunan *E. coli*'den spesifik patojenik suşlar tarafından üretilen bakteriyel protein toksinidir. Özellikle idrar yolunda ekstra bağırsak hastalıkları ile ilişkilidir (Daga *et al.* 2019). Ek olarak, bu genler, bakteriyemi vakalarını oluşturan *E. coli* suşlarında tespit edilebilir. Bu bakteriyel toksinler bulaşıcı hastalıklarda hayati öneme sahiptir ve bunlardan birkaçı insan tarafından bilinen en güçlü biyolojik ajanlar arasındadır (Mashiatullah *et al.* 2020). Sitotoksik nekrotizan faktörler (CNfs), tümör oluşumuna ve hiperproliferasyona katkıda bulunan hücre döngüsü modüle edici etkileri olan toksinlerdir. Öte yandan, CNf1 geni, konakçının bağışıklık sisteminde T hücrelerini uyararak kanser hastalarında immünoterapide kullanılmış ve kanserli tümörlerin büyümesini engelleyen çoğalmaları üzerinde çalışmıştır (Strakova *et al.* 2021).

2.3.2 *Escherichia coli* bağlama ve silme geni (*eaeA*)

E. coli'nin enteropatojenik *Escherichia coli*'de konak hücrenin epitel hücrelerine karakteristik yakın eki için gerekli bir gen olan *eaeA*, Bakteriyel yapışma, başarılı bir *E. coli* enfeksiyonu için ilk adımdır. Bu yapışma, yapışma proteini (Intimin) dahil olmak üzere birkaç protein tarafından yapılır (Gaytán *et al.* 2016).

Bu protein, *E. coli* bakterilerini konakçı hücrelerin zarlarına bağlamak için çalışır. Yüksek inflamatuar yanıtın bir sonucu olarak sistit ile ilişkili ağrının nedeni olduğu için özellikle idrar yolu enfeksiyonlarında *E. coli* enfeksiyonunun virülansından da birincil derecede sorumludur (González de Llano *et al.* 2020).

Konağın yanı sıra biyofilmler de dahil olmak üzere diğer virülans faktörlerinin oluşumundaki önemidir. Bu protein, yapışan ve silinen lezyonu oluşturmak için gerekli olduğu gösterilen *eaeA* geni tarafından kodlanır (McWilliams *et al.* 2015).

2.4 *Escherichia Coli*'nin Patojenitesi

Bağırsakta yaşayan çoğu *E. coli* suşu hastalığa neden olmaz, ancak Gastroenterit, İYE, neonatal menenjit, hemorajik kolit ve Crohn hastalığının tümüne viral suşlar neden olabilir. Endikasyonlar ve belirtiler arasında şiddetli mide ağrıları, ishal, kusma ve ateş bulunur (Sanchez-Villamil *et al.* 2019).

Nadir durumlarda, virülan suşlar, hemolitik-üremik sendroma neden olmadan bağırsak nekrozu (doku ölümü) ve perforasyon ile sonuçlanabilir (Salih *et al.* 2020).

Her yaştan sağlıklı insan, *E. coli* enfeksiyonunun bir sonucu olarak ciddi komplikasyonlar geçirme tehlikesi altındadır. Küçük çocuklar, hemolitik üremik sendrom gibi ciddi hastalıklara karşı özellikle savunmasızdır; ancak her yaştan sağlıklı insan, *E. coli* ile enfekte olmaları halinde ciddi tehlike altındadır (Gerges *et al.* 2016).

O157:H7 gibi birkaç *E. coli* suşu Shiga toksini üretebilir, Shiga toksini, bağırsak hedef hücrelerinde inflamatuar reaksiyonları tetikleyerek, Shiga toksini üreten *E. coli* (STEC) enfeksiyonunun bir belirtisi olan kanlı ishale yol açan lezyonlara neden olur. Üropatojenik *E. coli*, idrar yolu enfeksiyonlarının (UPEC) en yaygın nedenlerinden biridir. Bağırsak mikrobiyotasının doğal olarak oluşan ve farklı şekillerde sindirilebilen bir bileşenidir. Dışkıyı ters yönde silmek, özellikle kadınlarda tehlikeli olan ürogenital deliklerden fekal kontaminasyona yol açabilir (Forsyth *et al.* 2018). UPEC, anal ilişki sırasında erkek üretrasına aktarılabilir ve erkek de aynı şekilde, anal ilişkiden vajinal ilişkiye geçerken bakterileri dişi üriner sistemine aktarabilir (Forsyth *et al.* 2018).

Enterotoksijenik E. coli (ETEC), gelişmekte olan ülkelerde her yıl 840 milyondan fazla vakanın bildirildiği, gezgin ishalinin en önemli nedenidir. Bakteri ince bağırsağın astarına

yapışır ve sulu ishale neden olan iki tür endotoksinden birini üretir. Beş yaşın altındaki çocuklar, yılda 380.000 ölüme varan daha yüksek enfeksiyon ve şiddet oranlarına sahipti (Reiner Jr *et al.* 2018).

E. coli'nin O104:H4 suşlarından birinin Almanya'daki bir bakteriyel salgının kaynağı olduğu bulundu, bu antibiyotiğe dirençli *E. coli* suşlarıdır, salgın Almanya'da çok sayıda insanın enterohemorajik Sarmal ile enfekte olmasıyla başlamıştır (HUS), hızlı tedavi gerektiren *E. coli* (EHEC) bakterilerinin neden olduğu tıbbi bir acil durumdur (MacDonald 2015). Pandemi yalnızca Almanya'yı ve diğer 15 ülkeyi etkilemekle kalmadı, Kuzey Amerika bölgelerini de etkiledi. *Escherichia coli* bakterisinin yüzlerce suşu vardır. Çoğunluğu tamamen zararsızdır ve sağlıklı insan ve hayvanların bağırsaklarında yaşar. Her suşun kendi somatik (O) ve flagellar (H) antijenleri ve ayrıca genellikle plazmit aracılı olan virülans özellikleri vardır (Hosangadi *et al.* 2019).

A. *Enterohemorajik E. coli* (EHEC) suşları: *E. coli* O157:H7 ve daha az yaygın olarak, Shigella dysenteriae tip 1'de (Sd1) bulunanlara benzer sitotoksinler üreten diğer serotipler (O26:H11) hemorajik kolite neden olur. Bu toksinler verotoksinler veya shigalike toksinler olarak bilinir (Bitzan and Lapeyraque 2016).
B. *Enteroinvaziv E. coli* (EIEC) suşları: Bu suşlara (ya da gruba) EPEC serotiplerinden farklı olan *E. coli* serotipleri dahildir. EIEC suşları biyokimyasal olarak Shigella'ya benzer ve bağırsak epitel hücrelerine sızabilir (Hosangadi *et al.* 2019)
C. *Enteropatojenik E. coli* (EPEC) suşları: Geleneksel olarak infantil diyare ile epidemiyolojik olarak bağlantılı belirli *E. coli* serotiplerinin üyeleri olarak karakterize edilmiştir. EPEC son zamanlarda virülans özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. Bağırsak ve belirgin bir gastrointestinal lezyona neden olur. Enteropatojenik olan *E. coli* enterotoksin oluşturmaz ve invaziv değildir (Riley 2020).
D. *Enterotoksijenik E. coli* (ETEC) suşları: İnce bağırsağa girmeden yaşar ve ısıya dayanıklı enterotoksinler üretir (Jiang *et al.* 2019).
E. *Enteroagregatif E. coli* (EAEC) suşları. Doku kültürü tabanlı deneylerde, farklı yapışma modelleriyle tanımlanırlar. Lokalize yapışma sergileyen EPEC'den farklı olarak, bu suşlar HEP-2 veya HeLa hücrelerine "yığılmış tuğla" deseninde mi

yapışır? Bu hücre hatlarına yaygın bir şekilde yapışan başka bir *E.coli* grubu daha fazla araştırma gerektirmektedir (Zhang *et al.* 2016).

2.5 *Escherichia coli* Epidemiyolojisi

EHEC *E. coli* O157:H7'de bir sığır rezervuarı bulunur. EHEC genellikle herhangi bir zamanda sığır dışkısının en az %5'inde tespit edilir. Etken, kesim tesislerinde tutulan sığırlarda ve aynı veya biraz daha fazla sıklıkta taze kesilmiş hayvanların derilerinin dış yüzeyinde bulunmuştur. EHEC ayrıca geyik, koyun, köpek, at, sinek ve kuş gibi hayvanların dışkısında da keşfedilmiştir. EHEC ile sığır kolonizasyonu genellikle kısa ömürlüdür ve bir ila iki ay sürer. EHEC, sığırlarda herhangi bir hastalığa neden olmamakta bunun yerine geçici normal bir flora gibi görünmektedir (Hasan *et al.* 2019).

Bir sürüde O157: H7 dökülmesi, genellikle, seyrek olarak uzun süreler boyunca veya hiç dökülme ile serpiştirilmiş bir salgın saçılım modelini takip eder. EHEC, pastörize edilmemiş süt ve az pişmiş kıyma yoluyla yayılır. Açıklamanın bir kısmı, hamburger eti çok sayıda hayvandan gelmektedir. bir kutu hamburger 100 inekten elde edilmiş kıyma örneği içerebilir. Ayrıca kusurlu elma şarabı, çiğ sebzeler, salam, yoğurt ve sudan da salgınlar oluşabilir. EHEC ayrıca kişiden kişiye fekal-oral bulaşma yoluyla da yayılabilir. Enfeksiyon dozu: 1992-1993 yıllarında batı Amerika Birleşik Devletleri'nde kıyma köftelerinin yenmesiyle bağlantılı büyük bir salgında 700 mikrop kadar düşük bulaşıcı dozajların olduğu tahmin edilmiştir. Sığırlar denenmek için ilk bulunduğunda, kesimleri yüzeyde et kontaminasyonuna neden oldu. Bu düşük enfeksiyöz dozlar, *E. coli* O157H7'nin tolerans göstermediğini gösterir. Çoğu *E. coli* suşunun inkübe edilmesi için on saat ila altı gün gerekir; *E. coli* O157:H7'nin inkubasyonu ortalama üç ila dört gün sürerse de sekiz güne kadar da çıkabilir (Lu and Breidt 2015).

2.6 *Escherichia coli*'nin Tedavisi

Tedavinin temeli, dehidrasyon, sıvı ve elektrolitlerin yenilenmesinden elde edilen değerlendirmedir. Antibiyotiklerin, yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı direnç

artmadıkça, endemik bölgelerdeki yetişkinlerde ve gezgin ishalinde ETEC atılımından kaynaklanan hastalık süresini ve miktarını azalttığı gösterilmiştir (Bhatti and Enzler 2016).

Belirli coğrafi konumdaki duyarlılık eğilimleri, hangi antibiyotiğin kullanılacağını belirler. Şu anda, tercih edilen antibiyotikler genellikle kinolonlar veya azitromisin olup, rifaximin artan bir rol oynamaktadır. Yarı sentetik bir rifamisin türevi olan oral rifaximin, invaziv olmayan gezgin ishali olan yetişkinler için güvenli ve etkili bir antibiyotiktir (Elmaleh *et al.* 2021).

Yetişkinlerde non-invaziv gezgin ishali için, oral rifaximin etkili ve aynı zamanda iyi tolere edilen bir antibiyotiktir. Rifaksimin, diyare süresini azaltmada genellikle plasebodan daha etkiliydi ve siprofloksasinden daha az etkili değildi. Rifaximin, inflamatuar veya invaziv enter patojenleri olan kişilerde etkisiz görünmektedir, ancak *E. coli*'nin baskın olduğu gezgin ishali olan kişilerde yararlı olabilir (Hoy 2019).

Çoğu Aşı araştırma çabalarının üzerinde yoğunlaştığı *E. coli* türü olan ETEC'in önlenmesi. ETEC'in LT'sine ve ana CF'lere karşı antikorlar, LT üreten ve ETEC'i eksprese eden homolog CF'lere karşı koruma sağlar. Onaylanmış rekombinant kolera B alt birimi (rCTB)-WC kolera aşısı Dukoral gibi, toksin antijeni ve tüm hücreleri içeren oral inaktive aşılar oluşturulmuştur. Hâlihazırda onaylanmış hiçbir ETEC aşısı bulunmamakla birlikte, birçok çalışma devam etmektedir (Walker 2015).

rCTB-WC kolera aşısı ile yapılan çeşitli çalışmalarda kısa süreli korumada (%85-100) artış elde edilmiştir. Klinik testlerde, rCTB ve ana CF'leri eksprese eden formalinle inaktive edilmiş *E. coli* bakterilerini içeren Oral ETEC aşı adaylarının Amerikalı ziyaretçilerde güvenli, immünojenik ve şiddetli diyareye karşı etkili olduğu bulunurken Mısırlı küçük çocukları ETEC ishaline karşı korumamaktadır Klinik deneyler, ana CF'leri aşırı eksprese eden rekombinant *E. coli* suşlarından ve LCYBA olarak adlandırılan daha LT benzeri hibrit toksoidden oluşan ayarlanmış ETEC aşısı içindir (Akhtar *et al.* 2019).

2006'nın sonlarında, bu aşı Amerika Birleşik Devletleri'nde bir gezgin ishali aşısı olarak kullanılmak üzere onaylandı. Yine de, ETEC enfeksiyonunun küresel yayılımına ve aşının etkinliğine dayanan dikkatli bir değerlendirme, gezgin ishali vakalarının yaklaşık %7'sini engelleyebileceğini ortaya koydu (El-Bahnasawy and Morsy 2015).

2.7 *Escherichia coli* Teşhisi

E. coli, Enterobacteriaceae familyasına aittir ve basil şeklinde gram negatif bir bakteridir. Pili tarafından taşınan *E. coli*, insan bağırsağında doğal olarak yaşar ve aynı zamanda ishal dahil çeşitli hastalıklara neden olduğu için fırsatçı bir patojen olarak kabul edilir. Çalışma kapsamındaki izolatlar başlangıçta, kanlı agar besiyeri, MacConkey agar besiyeri ve Eosin metilen mavisi agar dahil olmak üzere Seçici besiyerinin her birinde kültüre alınmış ve daha sonra da *E. coli* izolatlarının teşhis edildiği izolatların morfolojik ve tanımsal özelliklerine dayanarak teşhis edilmiştir (Verhaegen *et al.* 2015).

Kanlı agar besiyerinin kültür sonuçları, bakterilerin hemolitik olmadığını, izolatların ise laktozu fermente etme ve asit üretme kabiliyeti nedeniyle MacConkey agar üzerinde büyürken keskin kenarlı pembe koloniler ürettiğini gösterdi. MacConkey agar besiyeri, Gram-negatif bakterilerin büyümesine izin verdiğinden ve içerdiği safra tuzlarının bir sonucu olarak gram-pozitif bakterilerin büyümesini engellediğinden, aynı zamanda seçicidir. Bu besiyeri gram-pozitif bakterilerin büyümesini engeller,bu nedenle bakterilerin gram-negatif olduğu kabul edilir (Solomon *et al.* 2017).

Eosin metilen mavisi agar besiyeri üzerindeki büyümenin sonuçları, yeşilimsi renkli, parlak metalik koloniler göstermiştir. e Bu fenotipik durum, bakterinin şekerleri laktoz ve sakarozu hızla fermente etme ve güçlü üretme yeteneğinin bir sonucu olarak *E. coli* bakterisinin bir özelliğidir. Bakteri pH'ı hızla düşürür ve ortam için Eozin ve metilen mavisi boyaları üzerinde etkilidir. Boyama sonrası mikroskobik inceleme basil şeklinde gram negatif bakteriler kırmızı renk göstermiştir (Haddad *et al.* 2021).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışma tasarımı

Buçalışma Şubat 2022'den Nisan 2022 tarihleri arasında yürütülmüştür. Maysan ilinden ishal enfeksiyonu nedeniyle hastaneye baş vuran çocuklardan yüz elli adet örnek toplanmıştır.

Kanlı ağar kültürü ve MacConkey agar 37 ºC'de 24 saat inkübasyondan sonra bakteri izolatları üzerinde mikrobiyolojik ve biyokimyasal testler (VITEK 2) yapılmıştır.

E. coli teşhisi için evrensel gen olarak 16rRNA genini ve PCR ile virülans genleri olarak CNF-1,2 ve *eaeA*'yı içeren moleküler bir çalışma düzenlenmiştir.

3.1.2 Ekipman ve aparatlar

Bu çalışmada kullanılan ekipman ve apartlar ile kimyasalların listesi aşağıda sırasıyla Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 de verilmiştir.

Apparatus	Company/Origin
Incubator	JRAD/China
Microwave oven	Gosonic/China
Balance	KERN/Germany
AURA TM PCR Cabinet	Labnet /Italy
Microspin 12, High-speed Mini-centrifuge	Bio San / LeTonya
Mini-Power Supply 300V, 2200V	Chain
Combi-spin	Bio San / LeTonya
Centrifuge	Hitachi / Germany
Micropipettes	Labnet/U.S.A
Tips (different size)	AFCO/Jordan
Multi Gene OptiMax Gradient Thermal Cycler	Labnet/U.S.A
Eppendorf 1.5ml Microtubes	Promega /U.S.A

Şekil 3.1 Ekipman ve aparatlar

Kits	Company/Origin
i-genomic BYF DNA Extraction Mini Kit • MYP Buffer • MP Buffer • MG Buffer • MB Buffer • MW Buffer (concentrate) • ME Buffer • Spin Columns (Blue color O-ring) • Collection Tubes (2.0ml tubes). •RNase A • Proteinase K •Lysozyme	Intron biotechnology/Korea
Agarose	Conda / USA
Red safe staining souluion	Intron / Korea
6X Loading dye	Intron / Korea
Ladder 100bp	Intron / Korea
Pre mix pcr	Intron / Korea
TBE buffer 10 X	Conda / USA
Primer	Integrated DNA technologies /USA
MacConkey agar ,Blood agar, Simons Citrate agar	(Himedia, India)
EMB agar medium	(Oxoid ,England)
Brain heart infusion (BHI) broth	(Pronadisa/ Spain)
Gram Stain Solutions (Crystal Violet, Safranin Stain, Iodine & Ethanol 95%)	(Fluka / Switzerland)
(Kovac's reagent).	Fluka chemika/ Switzerland
Peptone broth medium	(Mast-U.K.)
Oxidase Reagent &Catalase Reagent	(BDH /England)

Şekil 3.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler

3.2 Yöntemler

3.2.1 Kültür besiyerinin hazırlanması

Beyin Kalp İnfüzyonu (BHI) Broth Besiyeri

Bu ürün üretici tarafından geliştirilmiştir ve bakteri izolatlarının aktivasyonu için kullanılmıştır (Nguyen *et al.* 2022).

MacConkey Ağar Besiyeri

İzole Gram negatif bakteriler ve laktozu fermente eden bakterileri laktoz olmayanlardan ayırt eder (Abd Elfattah *et al.* 2017).

Kanlı Ağar Besiyeri

Üreticinin reçetesine göre kanlı agar bazı hazırlandı, (121°C/15 dakika) otoklavlandı ve daha sonra 50°C'ye soğutuldu. Bu yöntem, bakteri suşlarının kan hemoliz oluşturma kapasitelerini test etmek ve kültürlemek için kullanıldı (Odeyemi and Sani 2019).

Eozin metilen mavisi (EMB) ağar besiyeri

EMB agar, Gram pozitif bakterilerin büyümesini engelleyen ve ayrıca laktozu sindiren ve sindirmeyen organizmaları ayırt eden bir renk belirteci sağlayan farklılaştırılmış bir mikrobiyolojik ortamdır. *E. coli* kolonileri EMB agar üzerinde büyüdü ve ortaya çıktı (yeşil metalik parlaklık).

Üreticiye göre 35,96 g besiyerinin bir litre distile su içinde süspanse edilmesi, iyice karıştırılması ve düzenli çalkalama ile ısıtılarak çözülmesi, tamamen eriyene kadar bir dakika kaynatılmasıyla hazırlanmıştır. Daha sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilerek hemen 50°C'ye soğutulmuş iyice karıştırılmış ve tabaklara dağıtılmıştır (Begum and Bora 2018).

Peptonlu su ortamı

Bu yöntem, bakterilerin İndol üretme kapasitesini belirlemek için kullanılmıştır (Begum and Bora 2018).

3.2.2 Bakteriyel suşlar ve numunelerin toplanması

İshale yakalanan çocuklardan alınan ishal örneğinden izole edilen *E. coli* suşları. Maysan ilinde ishalli hastaların dışkılarından toplam 150 örnek izole edilmiştir.

3.2.3 *E. coli*'nin kültürel olarak tanımlanması

Dışkı örnekleri B.H.I broth besiyerinde kültürlenmiş ve bakteri üremesini desteklemek için 24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra MacConkey agar ortamı, eozin metilen mavisi ortamı ve kanlı agar ortamı gibi farklı kültür ortamlarında bakteriyel izolatların

kültürlenmesi ve saflaştırılmasından sonra izole edilen kolonilerin kültür özellikleri incelenmiştir. Çalışma, izole edilmiş bakteri kolonileri için tüm şekil, boyut, doku, renk, kenarlar ve yükseklikleri içermektedir.

3.2.4 Mikroskobik tanımlama

MacConkey agar besiyerinde 18-25 saat büyütülen genç bakteri izolatlarından smear hazırlanmış, ardından Gram boyama ile boyanarak ışık mikroskobunda incelenen hücrelerin gram boyamayla etkileşimlerine göre şekil, dizilim ve renklerinin görülmesi sağlanmıştır.

3.2.5 Biyokimyasal tanımlama

Oksidaz testi

MacConkey agar besiyerinde 24 saat büyüyen bir koloni, tahta çubuklarla sterilize edilmiş filtre kağıdına aktarıldıktan sonra üzerine bir damla oksidaz reaktifi eklenmiştir. 30-60 saniyede mor renge dönüşen renk değişimi, oksidaz enziminin üretiminin kanıtı olarak kabul edilmiştir (Bazzi *et al.* 2017).

Katalaz testi

MacConkey agar besiyerinde büyüyen bir koloni, 24 saat boyunca tahta çubuklarla steril, kuru bir cam slayt üzerine aktarılmış ardından buna bir damla %3 katalaz reaktifi eklenmiştir. Cam slaytın yüzeyindeki kabarcıkların görünümü, katalaz enziminden üretimin kanıtı olarak kabul edilmiştir (Kaushal *et al.* 2018).

İndol testi

Bu test, peptonlu su ortamı içeren test tüplerinin bakteri kolonileri ile aşılanması ve ardından 24 saat 37°C'de inkübe edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Ardından ortama 1-2 damla Kovacs reaktifi eklenmiştir. Medyanın yüzeyinde kırmızı bir halkanın görülmesi, pozitif bir testi göstermektedir (Happy *et al.* 2018).

Sitrat kullanım testi

Bu test, Simons sitrat ortamının bakteri kolonileri ile aşılanması ve ardından 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Rengin ortamdan yeşilden maviye değişmesi, bakteri üremesinin görünümü ile pozitif bir sonuç göstergesidir. Bu test, bakteriyel izolatlardan tek karbon ve enerji kaynağı olarak sitratı ve nitrojen kaynağı olarak amonyum tuzlarının tüketimini bilmek amacıyla kullanılmıştır (Arshad *et al.* 2015).

Hemolizin üretim testi

Bakteriyel izolatlar, kanlı agar besiyeri içeren plakalar üzerinde kültürlendi, plakalar, 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi, ardından sonuçlar, ayrışma tipi (alfa, beta veya gama) not edilerek okundu (Schwidder *et al.* 2019).

3.1.1 Vitek2 sistemini kullanarak *E. coli*'nin tanımlanması

Bu sistem üretici firmaya göre (bioMérieux, Fransa) *E. coli*'nin MacConkey agar üzerine aşılanması ve ardından (37ºC/24 saat) inkübasyonu ile kullanılmıştır. Normal salinden (3 mL) içeren test tüplerine 1-3 koloni aktarılarak yukarıdaki büyümeden bir bakteri süspansiyonu hazırlanmış ve süspansiyon bulanıklığı bir McFarland standardına (0,5) ayarlanmıştır.

3.1.2 Moleküler biyolojik çalışmalar

DNA ekstraksiyonu

Ticari i-genomik BYF DNA Ekstraksiyon Mini Kiti, Cat.No.17045, genomik DNA'yı izole etmek için kullanılmıştır (Ek 2).

Tris-Borate EDTA Buffer 10X hazırlanması

Bir litre (1L) 1X TBE tamponu, stok solüsyonu (TBE10X) tamponunun 100 mL 10X TBE ve 900 mL saf su ile seyreltilmesiyle yapılmıştır.

DNA kalitesini analiz etmek için jel elektroforezi

1- Agaroz tozundan 1g/100 mL 1x TBE içinde çözülerek hazırlanır, çözelti berraklaşana kadar sıcak blokta eritilir, daha sonra yaklaşık (50-55°C) soğutulur, ılık jel kırmızı leke ile boyanır, ve döküm tepsisinin uçları, banttan iki kat bantla kapatılmıştır.

2- Taraklar jel-döküm tepsisine girdikten sonra eriyen agaroz solüsyonu döküldü ve ardından tarak dikkatli bir şekilde dışarı çekilmeden ve bant çıkartılmadan önce ortam sıcaklığına gelmesine izin verildi. Elektroforez bölmesi, jel içine yerleştirilmeden önce TBE (1x) tamponu ile dolduruldu 3- DNA örnekleri karıştırıldı (5 µL + 3 µL DNA yükleme boyası) ve agaroz jel kuyularına yüklendi; 70V, 65Amp'de 1 saat elektroforez uygulandı ve DNA bir UV transillüminatör kullanılarak incelendi.

Primerlerin hazırlanması

Primerler liyofilize edildi, daha sonra 100pmol/µL nihai konsantrasyona sahip bir stok solüsyon yapmak üzere serbest ddH_2O içinde çözündürüldü ve -20°C'de saklandı. 10 pmol/µL konsantrasyonlu bir çalışma primeri yapmak için, 100 µL'lik bir son hacim elde etmek için 10 µL stok solüsyonunu 90 µL Nuclease-Free ddH_2O içinde çözündü.

Çalışmada kullanılan primerler

Tüm primerler, hedef geni içerir ve endojen gen, 10 pmol konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Bu bilgiler sırasıyla Çizelge 3.1, Çizelge 3.2, Çizelge 3.3, Çizelge 3.4, Çizelge 3.5, Çizelge 3.6 ve çizelge 3.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Bu çalışmayı kullanan primerlerin dizisi

Primer Dizisi	Primer	Genler	Tm (°C)	GC%	Ürün boyutu	Referans
AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	İleri	*16rRNA*	60	68,25	1500bp	(Pande *et al.* 2017)
CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTC	Geri		76	78,89		
AAGATTGCGCTGAAGCCTTTG	İleri	*O157*	62	68,88	497bp	(Sánchez *et al.* 2010)
CATTGGCATCGTCGTGTGGACAG'	Geri		62	70,30		
GGGGGAAGTACAGAAGAATTA	İleri	*CNF1*	60	66,93	1112bp	(Dubois *et al.* 2010)
TTGCCGTCCACTCTCTCACCAGT	Geri		72	75,33		
GAC CCG GCA CAA GCA TAA GC	İleri	*eaeA*	64	72,35	384bp	(López-Saucedo *et al.* 2003)
CCA CCT GCA GCA ACA AGA GG	Geri		64	72,35		

Çizelge 3.2 Maxime PCR PreMix kitinin (i-Taq) bileşenleri

Bileşik	**Reaksiyon boyutu 20 mL**
i-Taq TM DNA Polimeraz (5U/µL)	2,5 U
dNTPs	2,5 mM Her Biri
Reaksiyon tamponu(10x)	1x
Jel yükleme tamponu	1x

Çizelge 3.3 PCR'nin reaksiyon bileşenleri

Bileşen	**25 µL (Son hacim)**
Taq PCR Ön Karışımı	5 µL
İleri astar	10 picomols/ µL (1 µL)
Ters astar	10 picomols/ µL (1 µL)
DNA	1,5 µL
Damıtılmış su	16,5 µL

Çizelge 3.4 16rRNA Geninin PCR Döngü Programı

Steps	**Temprature**	**Time**	**Cycles**
Enzyme activation	95ºC	3 minutes	1
Denatuarion	95 ºC	45 Second	35
Annealing	55 ºC	45 Second	
Extension	72 ºC	1minute	
Final Extension	72 ºC	7Minutes	1

Çizelge 3.5 O157 Geninin PCR döngü programı

Adımlar	**Hava sıcaklığı**	**Zaman**	**Döngüler**
Enzim aktivasyonu	95ºC	3 Dakika	1
Denatürasyon	95 ºC	45 Saniye	35
Tavlama	55 ºC	45 Saniye	
Uzantı	72 ºC	1Dakika	
Son Uzatma	72 ºC	7Dakika	1

Çizelge 3.6 CNF1 Geninin PCR Döngü Programı

Adımlar	**Hava sıcaklığı**	**Zaman**	**Döngüler**
Enzim aktivasyonu	95ºC	5 Dakika	1
Denatürasyon	95 ºC	1 Dakika	35
Tavlama	54 ºC	30 Saniye	
Uzantı	72 ºC	1 Saniye	
Son Uzatma	72 ºC	5Saniye	1

Çizelge 3.7 *eaeA* geninin PCR döngü programı

Adımlar	Hava sıcaklığı	Zaman	Döngüler
Enzim aktivasyonu	95ºC	5 Dakika	1
Denatürasyon	95 ºC	20 Saniye	35
Tavlama	58 ºC	40 Saniye	
Uzantı	72 ºC	1 Dakika	
Son Uzatma	72 ºC	5Dakika	1

3.2 Istatistiksel Analizleri

Bu çalışmada parametrelerin istatistiksel analizleri SPSS 23 programı kullanılarak yapılmış, korelasyonu netleştirmek için ANOVA one way testi kullanılmıştır. Çalışmamızda sonuçlar bölümünde ortalamalar uygun yerlerde açıklanmış ve bunlar hakkında ve klinik semptomların dağılımı ve antibiyotik direnci hakkında bilgi verilmiştir.

İshal enfeksiyonu ile *E. coli* arasındaki ki-kare ve yüzdeyi bulmak ve bazı değişkenlerle korelasyonu bulmak ve değişkenler arasındaki anlamlı farklılıkları bulmak için p değeri 0.05'ten küçük olan istatistiksel program kullanıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Çalışma Örneğinin Tanımı

Bu çalışma Şubat 2022'den Nisan 2022'ye kadar yürütülmüştür. Çalışma süresince, Maysan Valiliği'ndeki Hastaneye ziyaretleri sırasında çocuklarda ishal enfeksiyonundan 150 örnek toplanmıştır. Aşağıdaki tablolar, çalışma örnek dosyasının kısa bir açıklamasıdır.

4.2 Dağılım Yaş (yıl) Grubu ve Cinsiyet

Sonuçlar, 150 hastadan ishalli çocuklarda yaş, cinsiyet, Anne Eğitimi ve Yaşadığı Yerler arasında net bir ilişki olduğunu gösterdi. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya koydu ($p = < 0,001$).

Sonuçlar, en yüksek oranın (3-4 yaş) yaşlar arasında (%51,3) olduğunu, ≥ 5 yaş için en düşük oranın (%22) olduğunu, ayrıca yaş grubunda (1 -2 yaş) yüzde (%26,7) olduğunu göstermiştir.

Cinsiyet dağılımına bakıldığında, erkeklerin oranı (%56,7) kızların oranından (%43,3) daha yüksektir, annenin eğitim durumu yükseköğrenim görmüş annelerde (%44) en yüksek iken, ilköğretime sahip annelerde en düşük orandır. (%19,3) ve ortaöğretime sahip anneler (%36,7) arasında, konutlar da şehir nüfusunun (%54) kırsal nüfusa (%46) göre en yüksek yüzdeye sahip olduğunu göstermiştir, Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi.

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi özelliklerde yaş, cinsiyet, anne eğitim durumu ve ikamet yeri ile karşılaştırıldığında önemli farklılıklar vardır.

Çizelge 4.1 Anne eğitimi ve yurtlara göre dağılım yaş (yıl) grubu ve cinsiyet

Değişkenler	Sıklık No= 150	%	P-değeri
Yaş(yıllar)			
1-2	40	26,7	0,00
3-4	77	51,3	
5≥	33	22	
Cinsiyet			
Erkek	85	56,7	0,00
Kadın	65	43,3	
Anne Eğitimi			
Öncelik	29	19,3	0,00
İkincil	55	36,7	
Daha yüksek	66	44	
Residanslar			
Şehir	81	54	0,00
Kırsal	69	46	

Çizelge 4.2 Yaş, cinsiyet, anne eğitimi ve konutlar için %95 güven aralığının üst sınırı ve alt sınırı

Değişkenler	Ortalama	SD	T-testi	P-değeri	95%CI	
					Daha düşük	Üst
Cinsiyet	1,433	0,497	35,307	0,000	1,35	1,51
Yaş	3,2867	1,3009	30,942	0,000	3,077	3,497
Eğitim	2,247	0,759	36,245	0,000	2,12	2,37
Konut	1,460	0,500	35,758	0,000	1,38	1,54
Belirti	2,627	1,482	21,712	0,000	2,39	2,87
Teşhis	1,960	0,826	29,047	0,000	1,83	2,09

* SD = Standart sapma, %95 GA= Güven Aralığı çizelge GA

Bu araştırmada beş yaş altı ishalli çocuklardan *E. coli* izole edilmiştir. Prevalansının yaşa bağlı olarak istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir (p = 0,001). İki yaşından büyük çocukların *E. coli* enfeksiyonu sonucu ishal olma olasılığının da daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu bulgu Tanzanya'da (Moyo *et al.* 2011) ve Nepal'de (Ansari *et al.* 2012) yapılan araştırmalarla tutarlıdır.

Bu durumun nedeni iki yaş altın ve emzirilen bebeklerde , annenin antikorlarının bebeği başlangıçta bir dereceye kadar şiddetli ishalden koruması ve 12 ila 16 aylık olduklarında yeterli korumayı sağlayabilmesi olabilir.

Bunu destekler bir görüşte Shorthand tarafından ifade edilmiştir. Shorthand'e göre, çocuklar daha çok açık hava etkinlikleriyle meşguldurler ve sağlık hizmetleriyle kişisel

hijyen konusunda çok az anlayışa sahiptirler. Dolayısıyla bunların hepsi onları yaşlandıkça sağlık sorunları için risk altına sokmaktadır (Sherchand *et al.*2009).

Sonuç olarak, daha büyük çocukların hayvanlarla veya dışkılarıyla temas etme riskinin küçük çocuklara göre daha yüksek olması, katkıda bulunan bir diğer faktör olabilir. İshalli çocuklarda *E. coli* varlığı ile hayvan veya gübreye maruz kalma öyküsü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı (p 0,05) olduğu görülmüştür.

Küçük çocukların çiftlik hayvanlarına ve gübreye yakın yerlerde, hayvanlara ve gübreye dokunduktan sonra ağız, göz ve burunla elleriyle temas etme alışkanlıkları nedeniyle *E. coli* taşıma olasılığı yüksek olabilir. Koruyucu giysiler giymemek ve sabunla el yıkamanın ihmal edilmesi, beş yaş altı çocuklarda *E. coli* oluşumuna araç olabilecek olması ihtimali çalışmamızla uyumludur. Wolde *et al.* (2021) çocuğun cinsiyetinin *E. coli* ishali oluşumu üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını bulmuşlardır. bu sonuç bizim bulgularımız ile çelişmektedir.

Altı yaşın altındaki çocuklarda, cinsiyet faktörü ishal enfeksiyonunda rol oynar. Tüm patojenlerde erkeklerin kadınlardan daha yüksek insidansa sahip olduğu keşfedilmiştir. Bunun, aralarındaki fizyolojik farklılıklardan kaynaklanması mümkündür (Ullah *et al.* 2019).

Sawsan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada , erkeklerin kadınlardan daha yüksek ishal yüzdesine sahip olduğunu bulmuştur (Al-Sorchee *et al.* 2013). Bu sonuç araştırmamız bulgularıyla ile uyumluluk göstermektedir.

Uruguay'da büyük şehirlerde yapılan araştırmalarda faydalı sonuçlar elde edilmiştir (Varela *et al.* 2015, Peirano *et al.* 2018). Bununla birlikte, bulgular; patojenik bakterilerin epidemiyolojisi, yayılımı, dağılımı ve özelliklerinin değişebileceği daha küçük kasabalarla kırsal alanlarda yapılan çalışmalarla desteklenmelidir (Flint *et al.* 2020).

4.3 Klinik Semptomlara Göre Dağılım

Araştırmamızda da örnek alınan 150 çocuğun klinik semptomlarına ait bulgular ve bunlar için yapılan istatistiksel analiz sonuçları aşağıda Çizelge 4.3'de verilmiştir. Ateş 56 (%37,3) çocukta en sık görülen semptom olurken, onu ağrı 45 (%30), yorgunluk 25 (%16,7), kanlı ishal15 (%10) ve ishal 9 (%6) izlenmiştir(Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 İshalli 150 çocuğun klinik belirtileri

Belirtiler	**Sıklık**	**%**	**T-Testi Önemi**
Ateş	56	37,3	21,71
Ağrı	45	30	p-değeri=0,00
İshal	9	6	
Kanlı ishal	15	10	
Tükenmişlik	25	16,7	
Toplam	150	100	

4.4 Tanı Yöntemlerine Göre Dağılım

Bu çalışmadaki tanı yöntemleri Çizelge 4.4'te gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Hem biyokimya hem de kültür testi aynı oranları göstermiştir. (%32), Gram boyama (%36) iken, PCR tabanlı test, bakteri filogenisi ve taksonomisi için kullanılan en yaygın temizlik genetik belirteci olan 16SrRNA genine38 (%19,6) dayanmaktadır. Sonuçlar, çizelge 4.4'te istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur (p = < 0,001).

Çizelge 4.4 Farklı *E. coli* tanı yöntemlerinden yüzde dağılımı

Tanı Yöntemleri	**Sıklık (No=50)**	**%**	**T-Testi Önemi**
Biyokimyasal Test	48/50	(96%)	29,047 p-değeri= 0,00
Gram Boyama	45/50	(90%)	
Kültür	48/50	(96%)	
16SrRNA	38/50	(76%)	

Dong ve ark. 2019 tarafından yapılan çalışmada, çocuklardan MacConkey, kan ve eozin metilen mavisi agar kültürlerinde toplam (75) ishalli dışkı alınmış, *E. coli* kolonileri Gram boyama, biyokimyasal testler ve Vitek-2, bu anlaşma, Alsadder hastanesi/pediatri bölümünde yapılan başka bir çalışma ile, bizim çalışmamızla da uyumludur.

4.5 *E. coli* İzolatlarının Antibiyotiklere Direnci

Bu araştırmada ele alınan *E. coli* izolatlarının bazı antibiyotik türlerine (Nitrofurantoin, Sulfa-Trimetoprim, Piperacillin, Cephazolin ve Ertapenem) karşı sahip oldukları direnç oranlarıyla ilgili bulgular aşağıda Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 incelendiğinde araştırmamızda belirlenen *E. coli* izolatları, Nitrofurantoin, Sulfa-Trimetoprim, Piperacillin, Cephazolin ve Ertapenem'e sırasıyla %64, %64, %42, %42 ile en yüksek dirence sahip oldukları görülecektir.

Abdul-hussein ve ekibinin antibiyotik direnci üzerine yaptığı bir araştırmaya göre, en sık kullanılan antibiyotiklerde önemli düzeyde direnç vardır. Yoksul ülkelerde bulunmaları nedeniyle, Nguyen ve ekibine (2022) göre sulfa-trimetoprim ishali tedavi etmek için sıklıkla kullanılır. Çalışmamız Khalil %4 ile %10 Hamada ve arkadaşlarının bulgularıyla benzerdir (Abdul-hussein *et al.* 2018).

İzolatların antibiyotik duyarlılık testi, önemli oranda Sefalotin direncini ortaya çıkarmıştır (yüzde 85,7). Üç veya daha fazla antibiyotik ailesinde bir ajana direnç olarak tanımlanan çoklu ilaç direnci, özellikle *E. coli*'de önemli bir kamu sorunu haline gelmiştir. %4 ve (Canizalez-Roman *et al.* 2016) %21 (Abdul-hussein *et al.* 2018, Kamwati *et al.* 2015, Canizalez-Roman *et al.* 2016) tarafından yapılan yerel çalışmalara benzer şekilde siprofloksasin direnci orta düzeydeydi, bu da bizim bulgularımızla uyumludur.

Amikasin, Arif and Salih (2010), Al Hilali (2010) tarafından bildirilen %0 ve Zhou *et al.* (2018) tarafından bildirilen % 3,3 ve (oranı küresel olarak yüzde 4 ile düşük direnç anlaşması göstermiştir. Siprofloksasin, artık çocuklarda ishali tedavi etmek için belirtilen en aktif antibakteriyel ajanlardan biri olmuştur (Ayatollahi *et al.* 2013).

Dirençsiz imipenem, Al-Hilali ve Shamkhi'nin %0 direnç (Al Hilali 2010, Shamki *et al.* 2012) bulguları ile ve bizim bulgularımız ile uyumludur.

Çizelge 4.5 *E. coli* izolatının antibiyotik direnç yüzdeleri

Antibiyotikler	**Kısaltma**	**Hassas (S) (%)**	**Dirençler(R) (%)**	**Orta (I) (%)**	**Toplam (%)**
Ampisilin	AMP	50(100)	0(0)	0(0)	150 (100)
Piperasilin	PIP	87(58)	63(42)	0(0)	150 (100)
Sefazolin	CFZ	72(48)	63(42)	15(10)	150 (100)
Sefoksitin	CXT	96(64)	48(32)	6(4)	150 (100)
Seftriakson	CRO	120(80)	30(20)	0(0)	150 (100)
Sefapim	CEF	120(80)	30(20)	0(0)	150 (100)
Ertapenem	ETP	72(48)	63(42)	15(10)	150 (100)
İmipenem	IPM	123(82)	0(0)	27(18)	150 (100)
Amikasin	AK	117(78)	9(6)	24(16)	150 (100)
Antibiyotik	GEN	117(78)	9(6)	24(16)	150 (100)
Siprofloksasin	CIP	96(64)	0(0)	54(36)	150 (100)
Tigesiklin	TGC	150(100)	0(0)	0(0)	150 (100)
Nitrofurantoin	NFN	54(36)	96(64)	0(0)	150 (100)
Sülfa-Trimetoprim	TMP-SMX	54(36)	96(64)	0(0)	150 (100)

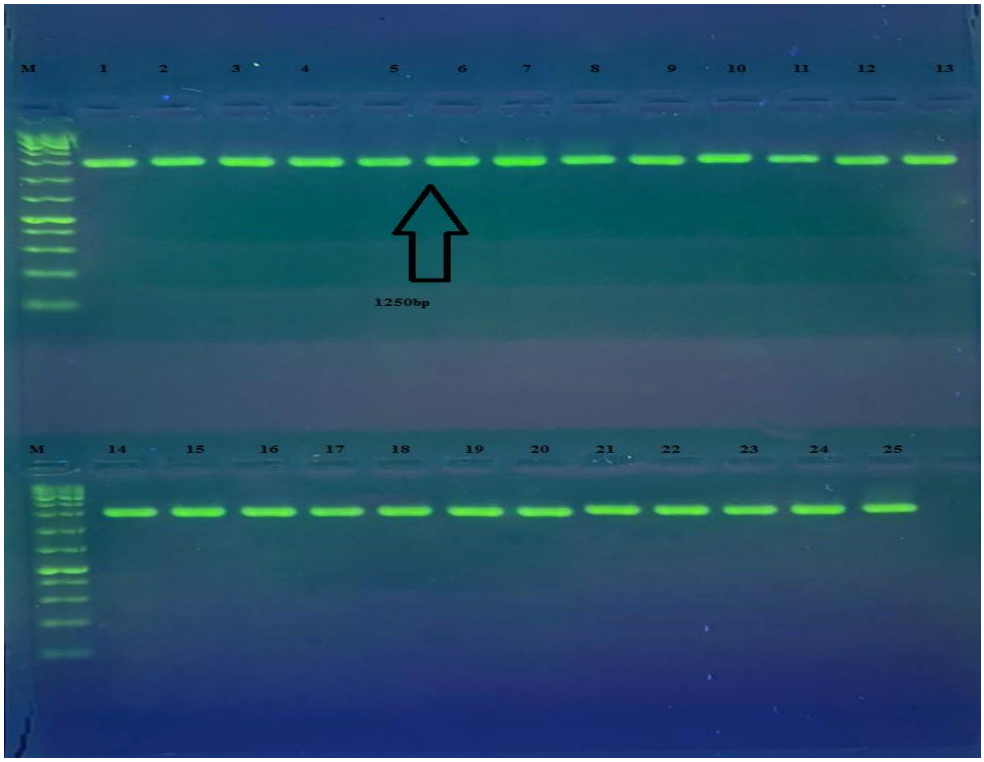
4.6 Moleküler Biyoloji Çalışmaları

*Escherichia coli'*nin neden olduğu ishalli hastalıkların epidemiyolojisi, güneydoğu Irak'ın Maysan bölgesinde moleküler teknikler kullanılarak incelenmiştir. İshal olan çocuklardan toplam 150 örnek alınmıştır. *E. coli* izolatları, serotiplendirme, antimikrobiyal duyarlılık testleri ile tanımlanmıştır. Virülans faktörlerini kodlayan genlerin varlığını belirlemek için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yapılmıştır.

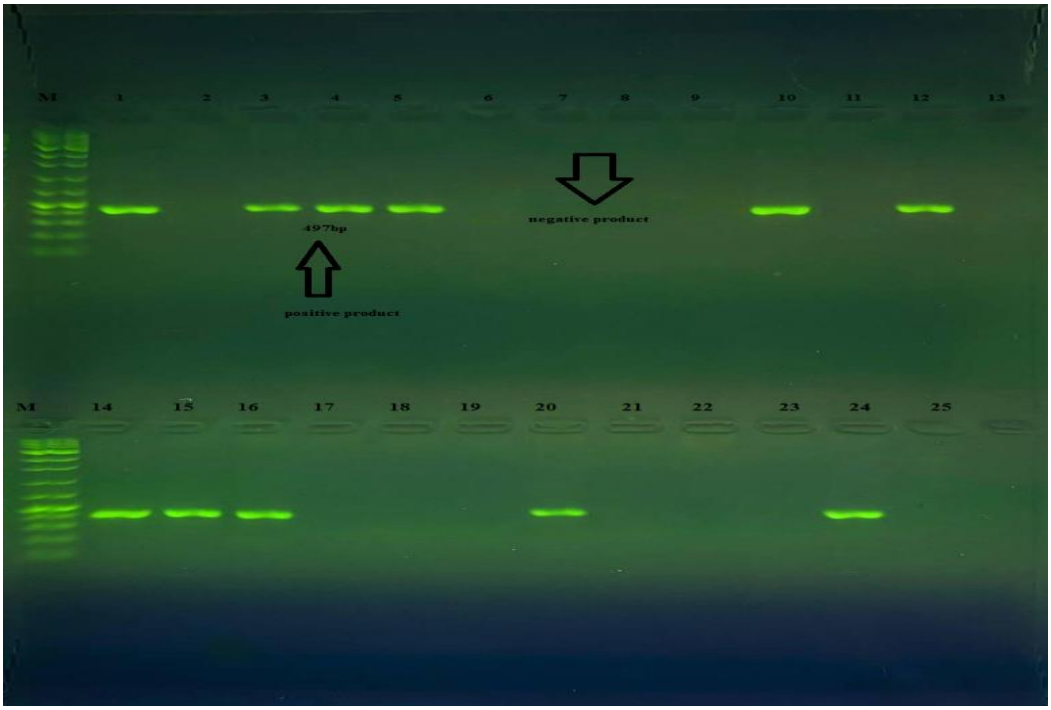
PCR, *E. coli* teşhisi için evrensel gen olarak 38(76%) 16rRNA geninin, *E. coli*'nin 28(%56) *E. coli* O157 serotipi, 40(%80) izolat CNF1 geni taşırken, 38(%76) *eaeA* genine sahiptir. İshalin önde gelen bir nedeni olan *E. coli*'nin epidemiyolojik çalışmalarında PCR testlerinin kullanımı gösterilmiştir, Çizelge 4.6, Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te görüldüğü gibi.

Çizelge 4.6 16s rRNA, *E. coli* O157 serotip, CNF1 ve *eaeA* genlerine göre çocuklarda diyare enfeksiyonunda *E. coli* izolatlarının g yüzdesi

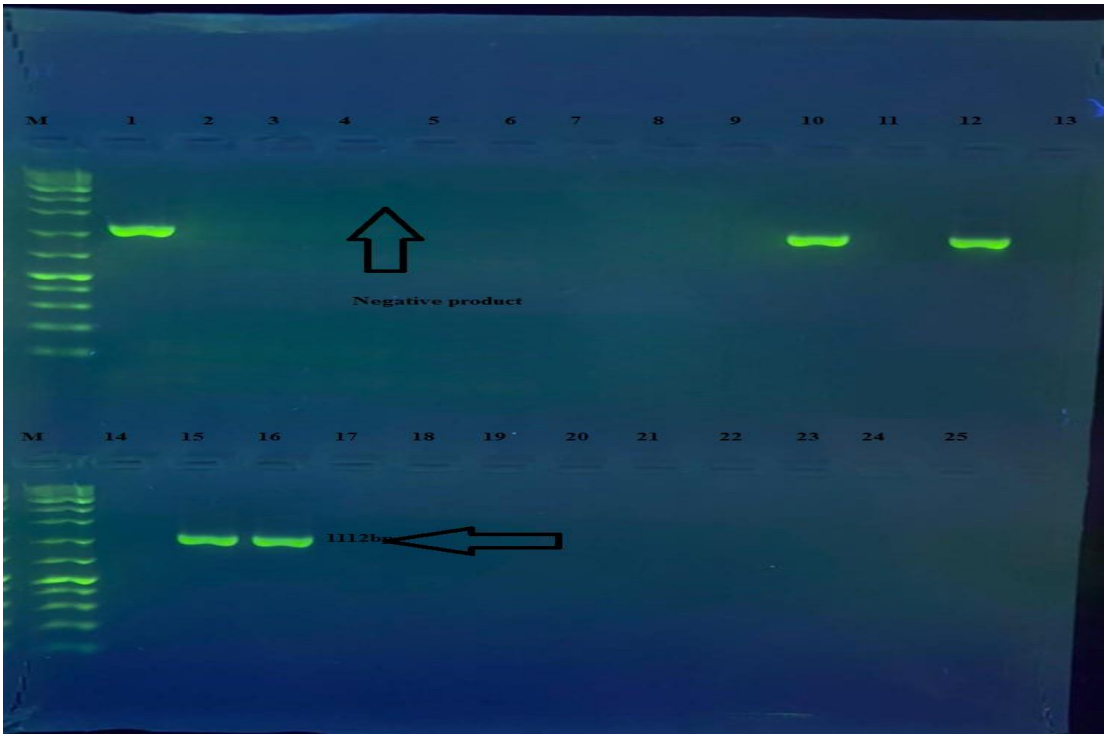
Gen adı	***16SrRNA (%)***	***Serotip O157 (%)***	***CNF1 (%)***	***eaeA (%)***
Pozitif	38(76%)	28(56%)	40(80%)	38(76%)
Negatif	12(24%)	22(44%)	10(20%)	12(24%)
Toplam	50(100%)			



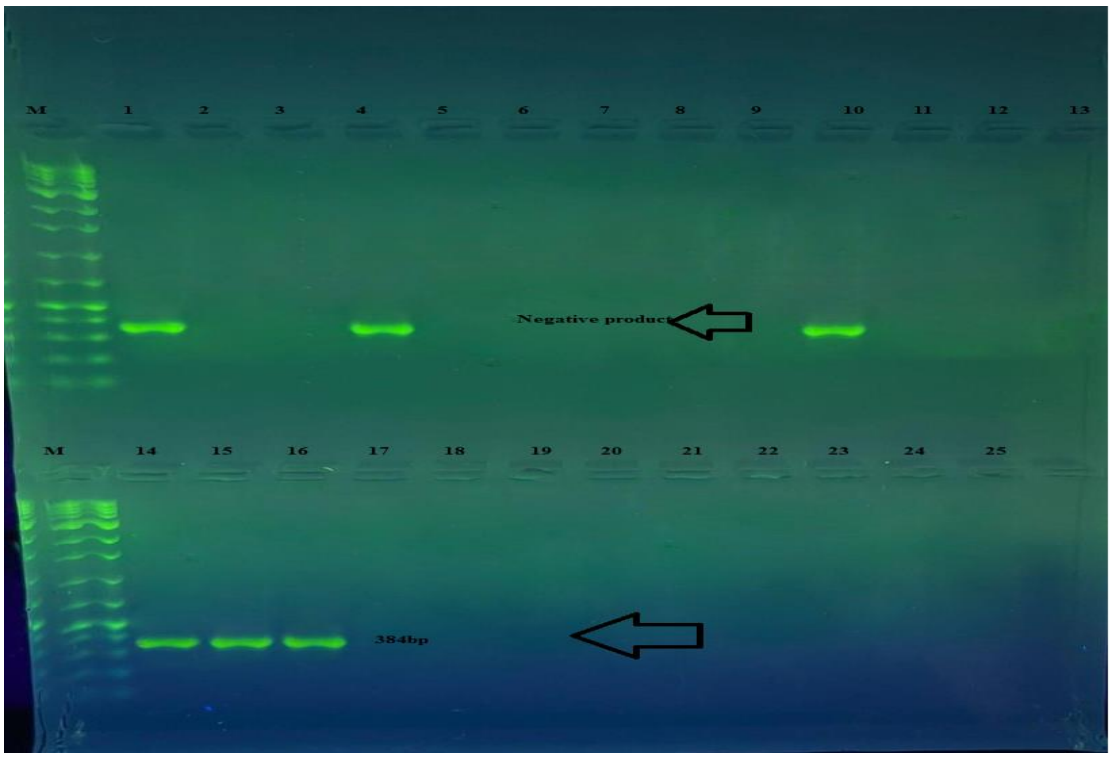
Şekil 4.1 16s RNA geninin (1250bp) PCR ürünü. Ürün, 5 volt/cm2'de %1,5 agaroz üzerinde elektroforezdi. 1:30 saat boyunca 1x TBE tamponu. M: DNA merdiveni (100)



Şekil 4.2 *E. coli* O157 serotipinin pozitif PCR ürünü. Şeritler (1,3,4,5,10,12,14,15,16, 20,24)



Şekil 4.3 CNF1 geninin pozitif PCR ürünü. Şeritler (1, 10, 12, 15, 16)



Şekil 4.4 *eaeA* geninin pozitif PCR ürünü. Şeritler (1, 4, 10, 14, 15, 16)

İshal, ishal enfeksiyonlarının çocuklarda ikinci en büyük ölüm nedeni (yılda 760.000) olduğu az gelişmiş ülkelerde, özellikle beş yaşın altındaki çocuklar arasında küresel bir sorun olmaya devam etmektedir (Ugboko *et al.* 2020).

İshale birçok bakteri, virüs ve parazit neden olmaktadır. Bu patojenler arasında, ishale neden olan *E. coli*, beş yaşın altındaki çocuklarda önemli bir hastalık nedenidir (Tobias *et al.* 2015).

Irak'ın Wasit Bölgesi'nde (Abdul-hussein *et al*. 2018) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları, 210 ishalli hastasının Aralık 42'sinde (%20) bulunduğunu göstermiştir ki bu, Hamada ve ekibinin Irak'ta ortaya koyduğu diğer bazı çalışmalarla uyumludur. İran'daki diğer çalışmalarla birlikte Kerkük'te (%36) ve uluslararası alanda ekip Heidary ve ekibi (%28) ve bizim çalışmamızBakteri türlerinin genomik dizilerinin karşılaştırılması, 16S ribozomal RNA (rRNA) geninin bir tür içinde ve aynı cinsin türleri arasında yüksek oranda korunduğunu, dolayısıyla bakterilerin spesifikasyonu için yeni altın standart olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Thijs *et al.* 2017).

16S rRNA gen dizileri, bakteri soyoluşunu ve taksonomisini incelemek için özellikle değerlidir. Çoğu *E. coli* numunesi, Wang *et al.* (2013) çalışması ile uyumlu olarak, *E. coli* DNA amplifikasyonunun varlığını ve kalitesini doğrulayan ve ayrıca PCR koşullarını doğrulayan bir dahili *E. coli* 16S rRNA kontrolüne sahiptiler (Barbosa *et al.* 2014).

DSÖ, 12 O serogrubundan gelen izolatları EPEC suşları olarak kabul etse de, bir serolojik araştırma, WHO tarafından listelenen 12 *E. coli* serogrubundan 8'inin EPEC suşları olduğunu ortaya koymuştur (Al-Hilali and Almohana 2011).

Alikhani *et al.* (2006) tarafından yürütülen bir araştırmaya göre, O55: K59(B5), Irak'ın Necef kentindeki ishal vakalarının yüzde 0,8'ini oluşturan en sık görülen EPEC izolatıdır. Bu çalışmaya göre, O55 serogrubu % 12,6 ile İran'da en yaygın olanıdır (Obi *et al.* 2004).

İran'da yapılan bir çalışmada incelenen 111 EPEC suşunun yüzde 40,5'inde *eaeA* geni bulunurken, Necef'teki çalışmada *eaeA* genini taşıyan izolatların beklenmedik bir ishal nedeni olduğu görülmüştür. *eaeA* genini taşıyan izolatlar bölgeye, mevsime, çocukların yaşına ve diğer faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir (Alikhani *et al.* 2006). Güney Afrika'da % 10,9 gibi daha düşük bir insidans gözlenmiştir (Obi *et al.* 2004).

Ancak Japonya'da, ishalli çocuklardan elde edilen tüm EPEC suşlarının *eaeA*'ya özgü bir primere tepki vermediği bulunmuştur (Nishikawa *et al.* 1997).

Yürütülen bir çalışmada, etkilenen 11 çocuğun (% 79) dışkısında yerleşik patojenik ajanların bulguları doğrulanmıştır. İshalli 11 çocuğun (% 79) dışkısında CNF üreten *E. coli* suşlarının bulunması bulgularımızla örtüşmektedir(Ssekatawa *et al.*2020).

Fekal CNF1 üreten izolatların karakterizasyonu, hepsinin en azından geçici olarak normal bağırsak florasını içeren potansiyel ExPEC olarak kabul edilebileceğini ortaya çıkarmıştır (Tavechio *et al.* 2004).

5. SONUÇLAR

1. Nitrofurantoin, Sulfa-Trimetoprim, en yüksek antibiyotik direncini gösterdi.Erişkinlerde tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonlarında (İYE) ve profilaksi alırken antibiyotik direnç paternini belirlemek için. Nitrofurantoin, tekrarlayan İYE'yi önlemede Sulfa-Trimetoprim'den daha etkiliydi. Nitrofurantoin daha düşük nüks oranına sahiptir ve CNF1 geninden daha az dirençli bakteri ortaya çıkmasına neden olur, bu nedenle *E. coli* ile tekrarlayan İYE'nin önlenmesi için daha uygundur.
2. EHEC virülans göstergeleri, serogruplar ve ekstraintestinal virülans belirteçleri değerlendirildiğinde, diyareli çocuklardan alınan *E. coli* O157 serotipi önemli ölçüde farklı profillere sahiptir.
3. En yaygın CNF1 geni Maysan ilindeki çocuklarda *E. coli'de* bulundu.
4. *eaeA* geni, EHCE izolatlarında yaygın olarak dağılmıştır.

5.1 Öneri

- Bakterilerin kendilerini antibiyotiklerden korumak için aldıkları, *E. coli* bakterilerinin yayılmasını azaltmak için incelenebilecek ve mekanizmalara göre sınıflandırılabilecek birçok mekanizma vardır.
- Antibiyotiklerin yapısını değiştirme çalışması ve bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığı nasıl koruduğu.
- Antibiyotikteki dört laktam halkasını çözen ve bu tür bakterilere direnmede etkisiz hale getiren laktamazların incelenmesi.
- Antibiyotiklere direnci hakkında daha fazla bilgi edinmek için Nitrofurantoin, Sulfa-Trimetoprim üzerinde daha kapsamlı çalışmalar yürütüyor.
- Çocuklarda tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) oluşmaması için antibiyotik direnci paternini belirlemek.
- Maysan Valiliği'ndeki çocuklarda *E. coli*'nin erken tanısında kullanımı için CNF1 geni üzerindeki çalışmanın genişletilmesi.

KAYNAKLAR

Abd Elfattah, L., Abd El-Azi, S. and Hashem, S. A. 2017. Identification and Susceptibility Testing of Non-Lactose Fermenting Gram-negative Bacilli in Urinary Tract Infection. The Egyptian Journal of Medical Microbiology (EJMM), 26(4): 45-46.

Abdul-Hussein, Z. K. 2018. Rana Hussein Raheemaand Ahmed Ibrahim Inssaf. Molecular Diagnosis of Diarrheagenic E. coli Infections among the Pediatric Patients in Wasit Province, Iraq, J. Pure. Appl. Microbiol., 12(4): 2229-2240.

Abdul-Hussein, Z. K., Raheema, R. H. and Inssaf, A. I. 2018. Molecular diagnosis of diarrheagenic E. coli infections among the pediatric patients in Wasit Province, Iraq. Journal of Pure and Applied Microbiology, 12(4): 2229-2241.

Abernathy, M. H., He, L. and Tang, Y. J. 2017. Channeling in native microbial pathways: implications and challenges for metabolic engineering. Biotechnology Advances, 35(6): 805-814.

Akhtar, M., Chowdhury, M. I., Bhuiyan, T. R., Kaim, J., Ahmed, T., Rafique, T. A. and Lundgren, A. 2019. Evaluation of the safety and immunogenicity of the oral inactivated multivalent enterotoxigenic Escherichia coli vaccine ETVAX in Bangladeshi adults in a double-blind, randomized, placebo-controlled Phase I trial using electrochemiluminescence and ELISA assays for immunogenicity analyses. Vaccine, 37(37): 5645-5656.

Al Hilali, S.A. 2010. Occurrence and molecular characterization of enteropathogenic Escherichia coli serotypes isolated from children with diarrhoea in Najaf, Iraq,. M. Sc. Thesis, Kufa University, 121 page, Kufa

Al-Hilali, S. A. and Almohana, A. M. 2011. Occurrence and molecular characterization of enteropathogenic Escherichia coli serotypes isolated from children with diarrhoea in Najaf, Iraq. Indian Journal of Medical Microbiology, 29(4): 383-388.

Alikhani, M. Y., Mirsalehian, A. and Aslani, M. M. 2006. Detection of typical and atypical enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) in Iranian children with and without diarrhoea. Journal of Medical Microbiology, 55(9): 1159-1163.

Al-Sorchee, S. M. A., Rabat, A. A. and Juma, I. M. 2013. Microbial causatives of diarrhea in children in Erbil city. Al-Nahrain Journal of Science, 16(3): 19-29.

Ansari, S., Sherchand, J. B., Parajuli, K., Mishra, S. K., Dahal, R. K., Shrestha, S. And Pokhrel, B. M. 2012. Bacterial etiology of acute diarrhea in children under five years of age. Journal of Nepal Health Research Council, 10(22): 218-223.

Arciola, C. R., Campoccia, D. and Montanaro, L. 2018. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. Nature Reviews Microbiology, 16(7): 397-409.

Arif, S. K. and Salih, L. I. 2010. Identification of Different Categories of Diarrheagenic" Escherichia coli" in Stool Samples by Using Multiplex PCR Technique. Asian Journal of Medical Sciences, 2: 237-243.

Arshad, H. M., Naureen, S., Saleem, K., Ali, S., Jabeen, T. and Babar, M. M. 2015. Morphological and biochemical characterization of Xanthomonas oryzae pv. oryzae isolates collected from Punjab during 2013. Advancements in Life Sciences, 2(3): 125-130.

Ayatollahi, J., Shahcheraghi, S. H., Akhondi, R. and Soluti, S. S. 2013. Antibiotic resistance patterns of Escherichia coli isolated from children in shahid sadoughi hospital of Yazd. Iranian Journal of Pediatric Hematology and Oncology, 3(2): 78.

Barbosa, M. M. C., Pinto, F. D. R., Ribeiro, L. F., Guriz, C. S. L., Ferraudo, A. S., Maluta, R. P. and Amaral, L. A. 2014. Serology and patterns of antimicrobial susceptibility in Escherichia coli isolates from pay-to-fish ponds. Arquivos do Instituto Biológico, 81(1): 43-48.

Bazzi, A. M., Al-Tawfiq, J. A. and Rabaan, A. A. 2017. Misinterpretation of Gram Stain from the stationary growth phase of positive blood cultures for Brucella and Acinetobacter species. The Open Microbiology Journal, 11: 126.

Begum, M. and Bora, P. 2018. Isolation and identification of bacterial strains in vermicompost and vermiwash. International Journal of Recent Research Review, 1(21): 3-567.

Bitzan, M. and Lapeyraque, A. L. 2016. Postinfectious hemolytic uremic syndrome. Pediatric Kidney Disease, 25: 653-731.

Bujňáková, D., Karahutová, L. and Kmeť, V. 2021. Escherichia coli Specific Virulence-Gene Markers Analysis for Quality Control of Ovine Cheese in Slovakia. Microorganisms, 9(9): 1808.

Canizalez-Roman, A., Flores-Villaseñor, H. M., Gonzalez-Nuñez, E., Velazquez-Roman, J., Vidal, J. E., Muro-Amador, S. and León-Sicairos, N. 2016. Surveillance of diarrheagenic Escherichia coli strains isolated from diarrhea cases from children, adults and elderly at Northwest of Mexico. Frontiers in Microbiology, 7: 1924.

Cubas-Cano, E., González-Fernández, C., Ballesteros, M. and Tomás-Pejó, E. 2018. Biotechnological advances in lactic acid production by lactic acid bacteria: lignocellulose as novel substrate. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 12(2); 290-303.

Daga, A. P., Koga, V. L., Soncini, J. G. M., de Matos, C. M., Perugini, M. R. E., Pelisson, M. and Vespero, E. C. 2019. Escherichia coli bloodstream infections in patients at a university hospital: virulence factors and clinical characteristics. Frontiers in Cellular and İnfection Microbiology, 9: 191.

Dong, G., Li, J., Chen, L., Bi, W., Zhang, X., Liu, H. and Cao, J. 2019. Effects of sub-minimum inhibitory concentrations of ciprofloxacin on biofilm formation and virulence factors of Escherichia coli. Brazilian Journal of Infectious Diseases, 23: 15-21.

Dubois, D., Delmas, J., Cady, A., Robin, F., Sivignon, A., Oswald, E. and Bonnet, R. 2010. Cyclomodulins in urosepsis strains of Escherichia coli. Journal of Clinical Microbiology, 48(6): 2122-2129.

El-Bahnasawy, M. M. and Morsy, T. A. 2015. BEYOND IMMUNIZATION: TRAVELERS'INFECTIOUS DISEASES 1-DIARRHEA. Journal of the Egyptian Society of Parasitology, 45(1): 29-42.

Elmaleh, D. R., Downey, M. A., Kundakovic, L., Wilkinson, J. E., Neeman, Z. and Segal, E. 2021. New approaches to profile the microbiome for treatment of neurodegenerative disease. Journal of Alzheimer's Disease, 82(4): 1373-1401.

Flint, S. J., Racaniello, V. R., Rall, G. F., Hatziioannou, T. and Skalka, A. M. 2020. Principles of virology, Volume 2: pathogenesis and control. John Wiley & Sons., 16(13): 26-27

Forsyth, V. S., Armbruster, C. E., Smith, S. N., Pirani, A., Springman, A. C., Walters, M. S. and Mobley, H. L. 2018. Rapid growth of uropathogenic Escherichia coli during human urinary tract infection. MBio, 9(2); e00186-18.

Gaytán, M. O., Martínez-Santos, V. I., Soto, E. and González-Pedrajo, B. 2016. Type three secretion system in attaching and effacing pathogens. Frontiers in Cellular and İnfection Microbiology, 6: 129.

Gerges, D. I., LaPlant, W. G., Hyde, J. N., Previl, H. and Forrester, J. 2016. Semi-quantitative estimation of Escherichia coli levels in public drinking water sources in northern Haiti. Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development, 6(1): 89-95.

Gleizer, S., Ben-Nissan, R., Bar-On, Y. M., Antonovsky, N., Noor, E., Zohar, Y. and Milo, R. 2019. Conversion of Escherichia coli to generate all biomass carbon from CO2. Cell, 179(6); 1255-1263.

González de Llano, D., Moreno-Arribas, M. V. and Bartolomé, B. 2020. Cranberry polyphenols and prevention against urinary tract infections: relevant considerations. Molecules, 25(15): 3523.

Gou, M., Hu, H. W., Zhang, Y. J., Wang, J. T., Hayden, H., Tang, Y. Q. and He, J. Z. 2018. Aerobic composting reduces antibiotic resistance genes in cattle manure and the resistome dissemination in agricultural soils. Science of The Total Environment, 612: 1300-1310.

Gui, Q., Lawson, T., Shan, S., Yan, L. and Liu, Y. 2017. The application of whole cell-based biosensors for use in environmental analysis and in medical diagnostics. Sensors, 17(7): 1623.

Haddad, G., Bellali, S., Takakura, T., Fontanini, A., Ominami, Y., Bou Khalil, J. and Raoult, D. 2021. Scanning electron microscope: a new potential tool to replace gram staining for microbe identification in blood cultures. Microorganisms, 9(6): 1170.

Hansen, F. G. and Atlung, T. 2018. The DnaA tale. Frontiers in Microbiology, 9: 319.

Happy, A. H., Bishwabidyalay, G., Bishwabidyalay, G., Bishwabidyalay, G., Bishwabidalay, G., Bishwabidyalay, G. and Bishwabidyalay, G. 2018. Isolation, Identification and Characterization of Gram Negative Bacteria from Popular Street Food (Chotpoti) at Savar Area, Dhaka, Bangladesh. Open Access Library Journal, 5(11): 1.

Hasan, M. S., Hussein, M. A. and Yousif, A. A. 2019. Confirmatory Detection of Escherichia coli O157: H7 in Diarrhoeic and Non-Diarrhoeic Calves by using real

time PCR with Studying the Antimicrobial Susceptibility of these bacteria. Research Journal of Pharmacy and Technology, 12(1): 245-250.

Hosangadi, D., Smith, P. G., Kaslow, D. C. and Giersing, B. K. 2019. WHO consultation on ETEC and Shigella burden of disease, Geneva, 6-7th April 2017: Meeting report. Vaccine, 37(50); 7381-7390.

Hoy, S. M. 2019. Rifamycin SV MMX®: A Review in the Treatment of Traveller's Diarrhoea. Clinical Drug Investigation, 39(7): 691-697.

Jaakkonen, A., Castro, H., Hallanvuo, S., Ranta, J., Rossi, M., Isidro, J. and Hakkinen, M. 2019. Longitudinal study of Shiga toxin-producing Escherichia coli and Campylobacter jejuni on Finnish dairy farms and in raw milk. Applied and Environmental Microbiology, 85(7): e02910-18.

Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T. and Ishii, S. 2017. Environmental Escherichia coli: ecology and public health implications-a review. Journal of Applied Microbiology, 123(3): 570-581.

Jiang, X., Xia, S., He, X., Ma, H., Feng, Y., Liu, Z. and Liu, D. 2019. Targeting peptide-enhanced antibody and CD11c+ dendritic cells to inclusion bodies expressing protective antigen against ETEC in mice. The FASEB Journal, 33(2): 2836-2847.

Johnson, J. R., A. C. Murray, A. Gajewski, M. Sullivan, P. Snippes, M. A. Kuskowski, and K. E. Smith. 2003. Isolation and molecular characterization of nalidixic acid-resistant extraintestinal pathogenic Escherichia coli from retail chicken products. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 2161-2168

Johnson, L. A. and Hug, L. A. 2019. Distribution of reactive oxygen species defense mechanisms across domain bacteria. Free Radical Biology and Medicine, 140: 93-102.

Joseph, K. and Apondi, O. J. 2018. Gastrointestinal microbial flora in wild and captive olive baboons (Papio anubis). American Journal of Infectious Diseases, 6(1): 30-37.

Kampmeier, S., Berger, M., Mellmann, A., Karch, H. and Berger, P. 2018. The 2011 German enterohemorrhagic Escherichia coli O104: H4 outbreak. The danger is still out there. Escherichia Coli, A Versatile Pathogen, 36: 117-148.

Kaushal, J., Mehandia, S., Singh, G., Raina, A. and Arya, S. K. 2018. Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 16: 192-199.

Lazcano, A. and Peretó, J. 2017. On the origin of mitosing cells: A historical appraisal of Lynn Margulis endosymbiotic theory. Journal of Theoretical Biology, 434: 80-87.

Lechner, M., Schwarz, M., Opitz, M. and Frey, E. 2016. Hierarchical post-transcriptional regulation of colicin E2 expression in Escherichia coli. PLoS Computational Biology, 12(12): e1005243.

López-Saucedo, C., Cerna, J. F., Villegas-Sepulveda, N., Thompson, R., Velazquez, F. R., Torres, J. and Estrada-García, T. 2003. Single multiplex polymerase chain reaction to detect diverse loci associated with diarrheagenic Escherichia coli. Emerging İnfectious Diseases, 9(1): 127.

Lu, Z. and Breidt, F. 2015. Escherichia coli O157: H7 bacteriophage Φ241 isolated from an industrial cucumber fermentation at high acidity and salinity. Frontiers in Microbiology, 6: 67.

MacDonald, T. A. 2015. Effect of periphytic Escherichia coli and lake water bacterial population on the biofilm establishment of a Shiga toxin producing Escherichia coli O157: H7 strain, Doctoral dissertation, Lakehead University. 98 page, Canada

Marchal, C., Sima, J. and Gilbert, D. M. 2019. Control of DNA replication timing in the 3D genome. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 20(12): 721-737.

Mashiatullah, A. and Qureshi, R. M. 2020. A review of research on common biological agents and their impact on environment. The Nucleus, 46(4): 435-448.

McWilliams, B. D. and Torres, A. G. 2015. Enterohemorrhagic Escherichia coli adhesins. Enterohemorrhagic Escherichia coli and Other Shiga Toxin-Producing E. coli, 13: 131-155.

Mikkola, S. K., Robciuc, A., Lokajova, J., Holding, A. J., Lämmerhofer, M., Kilpeläinen, I. and Wiedmer, S. K. 2015. Impact of amphiphilic biomass-dissolving ionic liquids on biological cells and liposomes. Environmental Science & Technology, 49(3): 1870-1878.

Moyo, S. J., Gro, N., Matee, M. I., Kitundu, J., Myrmel, H., Mylvaganam, H. and Langeland, N. 2011. Age specific aetiological agents of diarrhoea in hospitalized

children aged less than five years in Dar es Salaam, Tanzania. BMC Pediatrics, 11(1): 1-6.

Muhammad, M. H., Idris, A. L., Fan, X., Guo, Y., Yu, Y., Jin, X. and Huang, T. 2020. Beyond risk: bacterial biofilms and their regulating approaches. Frontiers in Microbiology, 11: 928.

Muktar, Y., Mamo, G., Tesfaye, B. and Belina, D. 2015. A review on major bacterial causes of calf diarrhea and its diagnostic method. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health, 7(5): 173-185.

Nguyen, N. T. X., Daniel, P., Pilard, J. F., Cariou, R., Gigout, F. and Leroi, F. 2022. Antibacterial activity of plasma-treated polypropylene membrane functionalized with living Carnobacterium divergens in cold-smoked salmon. Food Control, 137: 108903.

Nishikawa, Y., Zhou, Z., Hase, A., Ogasawara, J., Kitase, T., Abe, N. and Haruki, K. 2002. Diarrheagenic Escherichia coli isolated from stools of sporadic cases of diarrheal illness in Osaka City, Japan between 1997 and 2000: prevalence of enteroaggregative E. coli heat-stable enterotoxin 1 gene-possessing E. coli. Japanese Journal of İnfectious Diseases, 55(6): 183-190.

Nybo, S. E., Khan, N. E., Woolston, B. M. and Curtis, W. R. 2015. Metabolic engineering in chemolithoautotrophic hosts for the production of fuels and chemicals. Metabolic Engineering, 30: 105-120.

Obi, C. L., Green, E., Bessong, P. O., De Villiers, B., Hoosen, A. A., Igumbor, E. O. and Potgieter, N. 2004. Gene encoding virulence markers among Escherichia coli isolates from diarrhoeic stool samples and river sources in rural Venda communities of South Africa. Water SA, 30(1): 37-42.

Odeyemi, O. A. and Sani, N. A. 2019. Antibiotic resistance, putative virulence factors and curli fimbrination among Cronobacter species. Microbial Pathogenesis, 136: 103665.

Okano, H., Hermsen, R. and Hwa, T. 2021. Hierarchical and simultaneous utilization of carbon substrates: mechanistic insights, physiological roles, and ecological consequences. Current Opinion in Microbiology, 63: 172-178.

Pande, A., Pandey, P. and Kaushik, S. 2017. Co-inoculation of Burkholderia cepacia and Alcaligenes aquatilis enhances plant growth of maize (Zea mays) under green house and field condition. Korean Journal of Agricultural Science, 44(2): 196-210..

Panel, E. B., Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordónez, A., Bover-Cid, S., Chemaly, M. and Bolton, D. 2020. Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. EFSA Journal, 18(1): e05967.

Passmore, I. J., Letertre, M. P., Preston, M. D., Bianconi, I., Harrison, M. A., Nasher, F. and Dawson, L. F. 2018. Para-cresol production by Clostridium difficile affects microbial diversity and membrane integrity of Gram-negative bacteria. PLoS Pathogens, 14(9): e1007191.

Peirano, V., Bianco, M. N., Navarro, A., Schelotto, F. and Varela, G. 2018. Diarrheagenic Escherichia coli associated with acute gastroenteritis in children from Soriano, Uruguay. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 16(13): 26-27.

Ranjbar, R., Safarpoor Dehkordi, F., Sakhaei Shahreza, M. H. and Rahimi, E. 2018. Prevalence, identification of virulence factors, O-serogroups and antibiotic resistance properties of Shiga-toxin producing Escherichia coli strains isolated from raw milk and traditional dairy products. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 7(1): 1-11.

Reiner Jr, R. C., Graetz, N., Casey, D. C., Troeger, C., Garcia, G. M., Mosser, J. F. and Hay, S. I. 2018. Variation in childhood diarrheal morbidity and mortality in Africa, 2000–2015. New England Journal of Medicine, 379(12): 1128-1138.

Riley, L. W. 2020. Distinguishing pathovars from nonpathovars: Escherichia coli. Microbiology Spectrum, 8(4): 8-4.

Rodríguez-Rubio, L., Haarmann, N., Schwidder, M., Muniesa, M. and Schmidt, H. 2021. Bacteriophages of Shiga toxin-producing Escherichia coli and their contribution to pathogenicity. Pathogens, 10(4): 404.

Royer, G., Darty, M. M., Clermont, O., Condamine, B., Laouenan, C., Decousser, J. W. and Denamur, E. 2021. Phylogroup stability contrasts with high within sequence type complex dynamics of Escherichia coli bloodstream infection isolates over a 12-year period. Genome Medicine, 13(1): 1-17.

Sachdeva, S., Palur, R. V., Sudhakar, K. U. and Rathinavelan, T. 2017. E. coli group 1 capsular polysaccharide exportation nanomachinary as a plausible antivirulence target in the perspective of emerging antimicrobial resistance. Frontiers in Microbiology, 8: 70.

Salih, A. H. S. R. H., Hussain, M. H. and Hassoon, A. S. 2020. Antibacterial activity of Italic leaves Aqueous Extract Against Two Pathogenic Bacteria. Annals of Tropical Medicine and Public Health, 23: 171-175.

Sánchez, S., Martínez, R., García, A., Blanco, J., Echeita, A., de Mendoza, J. H. and Alonso, J. M. 2010. Shiga toxin-producing Escherichia coli O157: H7 from extensive cattle of the fighting bulls breed. Research in Veterinary Science, 88(2): 208-210.

Sanchez-Villamil, J. I., Tapia, D. and Torres, A. G. 2019. Development of a gold nanoparticle vaccine against enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7. MBio, 10(4): e01869-19.

Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G. and Choroszy-Krol, I. 2019. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic Escherichia coli isolated from different sources: recent reports. Gut pathogens, 11(1): 1-16.

Schulze, A., Mitterer, F., Pombo, J. P. and Schild, S. 2021. Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance-development, composition and regulation-therapeutical strategies. Microbial Cell, 8(2): 28.

Schwidder, M., Heinisch, L. and Schmidt, H. 2019. Genetics, toxicity, and distribution of enterohemorrhagic Escherichia coli hemolysin. Toxins, 11(9): 502.

Shamki, J. A., Al-Charrakh, A. H. and Al-Khafaji, J. K. 2012. Detection of ESBLs in Enteropathogenic E. coli (EPEC) isolates associated with infantile diarrhea in Kut City. Medical Journal of Babylon, 9(2); 403-412.

Sherchand, J. B., Yokoo, M., Sherchand, O., Pant, A. R. and Nakogomi, O. 2009. Burden of enteropathogens associated diarrheal diseases in children hospital, Nepal. Scientific World, 7(7): 71-75.

Si, F., Li, D., Cox, S. E., Sauls, J. T., Azizi, O., Sou, C. and Jun, S. 2017. Invariance of initiation mass and predictability of cell size in Escherichia coli. Current Biology, 27(9): 1278-1287.

Solomon, F. B., Wadilo, F. W., Arota, A. A. and Abraham, Y. L. 2017. Antibiotic resistant airborne bacteria and their multidrug resistance pattern at University teaching referral Hospital in South Ethiopia. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 16(1): 1-7.

Ssekatawa, K., Byarugaba, D. K., Nakavuma, J. L., Kato, C. D., Ejobi, F., Tweyongyere, R. and Wampande, E. M. 2021. Carbapenem Resistance Profiles of Pathogenic Escherichia coli in Uganda. European Journal of Biology and Biotechnology, 2(2): 63-73.

Strakova, N., Korena, K. and Karpiskova, R. 2021. Klebsiella pneumoniae producing bacterial toxin colibactin as a risk of colorectal cancer development-A systematic review. Toxicon, 197: 126-135.

Suardana, I. W. 2014. Analysis of Nucleotide Sequences of the 16S rRNA Gene of Novel Escherichia coli Strains Isolated from Feces of Human and Bali Cattle. Journal of Nucleic Acids, 2014: 475754.

Tavechio, A. T., Marques, L. R. M., Abe, C. M. and Gomes, T. A. 2004. Detection of cytotoxic necrotizing factor types 1 and 2 among fecal Escherichia coli isolates from Brazilian children with and without diarrhea. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 99: 81-83.

Thijs, S., Op De Beeck, M., Beckers, B., Truyens, S., Stevens, V., Van Hamme, J. D. and Vangronsveld, J. 2017. Comparative evaluation of four bacteria-specific primer pairs for 16S rRNA gene surveys. Frontiers in Microbiology, 8: 494.

Tobias, J., Kassem, E., Rubinstein, U., Bialik, A., Vutukuru, S. R., Navaro, A. and Muhsen, K. 2015. Involvement of main diarrheagenic Escherichia coli, with emphasis on enteroaggregative E. coli, in severe non-epidemic pediatric diarrhea in a high-income country. BMC İnfectious Diseases, 15(1): 1-7.

Ugboko, H. U., Nwinyi, O. C., Oranusi, S. U. and Oyewale, J. O. 2020. Childhood diarrhoeal diseases in developing countries. Heliyon, 6(4): e03690.

Ullah, M. B., Mridha, M. K., Arnold, C. D., Matias, S. L., Khan, M. S. A., Siddiqui, Z. and Dewey, K. G. 2019. Factors associated with diarrhea and acute respiratory infection in children under two years of age in rural Bangladesh. BMC Pediatrics, 19(1): 1-11.

Varela, G., Batthyány, L., Bianco, M. N., Pérez, W., Pardo, L., Algorta, G. and Schelotto, F. 2015. Enteropathogens associated with acute diarrhea in children from households with high socioeconomic level in Uruguay. International Journal of Microbiology, 12(3): 16-17.

Verhaegen, B., De Reu, K., Heyndrickx, M. and De Zutter, L. 2015. Comparison of six chromogenic agar media for the isolation of a broad variety of non-O157 Shigatoxin-producing Escherichia coli (STEC) serogroups. International Journal of Environmental Research and Public Health, 12(6): 6965-6978.

Viela, F., Mathelié-Guinlet, M., Viljoen, A. and Dufrêne, Y. F. 2020. What makes bacterial pathogens so sticky. Molecular Microbiology, 113(4): 683-690.

Vizsnyiczai, G., Frangipane, G., Bianchi, S., Saglimbeni, F., Dell'Arciprete, D. and Di Leonardo, R. 2020. A transition to stable one-dimensional swimming enhances E. coli motility through narrow channels. Nature Communications, 11(1): 1-7.

Walker, R. I. 2015. An assessment of enterotoxigenic Escherichia coli and Shigella vaccine candidates for infants and children. Vaccine, 33(8): 954-965.

Wang, D., Farnleitner, A. H., Field, K. G., Green, H. C., Shanks, O. C. and Boehm, A.B. 2013 Enterococcus and Escherichia coli fecal source apportionment with microbial source tracking genetic markers is it feasible. Water Res., 47: 6849-6861.

Wolde, A., Deneke, Y., Sisay, T., Mathewos, M. and Fesseha, H. 2021. Isolation of Escherichia coli and Its Associated Risk Factor from Diarrheic Children in Wolaita Sodo Town, Southern Ethiopia. Research and Reports in Tropical Medicine, 12: 227.

Yang, Q., Wu, M., Dai, Z., Xin, F., Zhou, J., Dong, W. and Zhang, W. 2020. Comprehensive investigation of succinic acid production by Actinobacillus succinogenes: A promising native succinic acid producer. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 14(5); 950-964.

Zhang, R., Gu, D. X., Huang, Y. L., Chan, E. W. C., Chen, G. X. and Chen, S. 2016. Comparative genetic characterization of Enteroaggregative Escherichia coli strains recovered from clinical and non-clinical settings. Scientific Reports, 6(1): 1-9.

Zhou, Y., Zhu, X., Hou, H., Lu, Y., Yu, J., Mao, L. and Sun, Z. 2018. Characteristics of diarrheagenic Escherichia coli among children under 5 years of age with acute diarrhea: a hospital based study. BMC İnfectious Diseases, 18(1): 1-10.

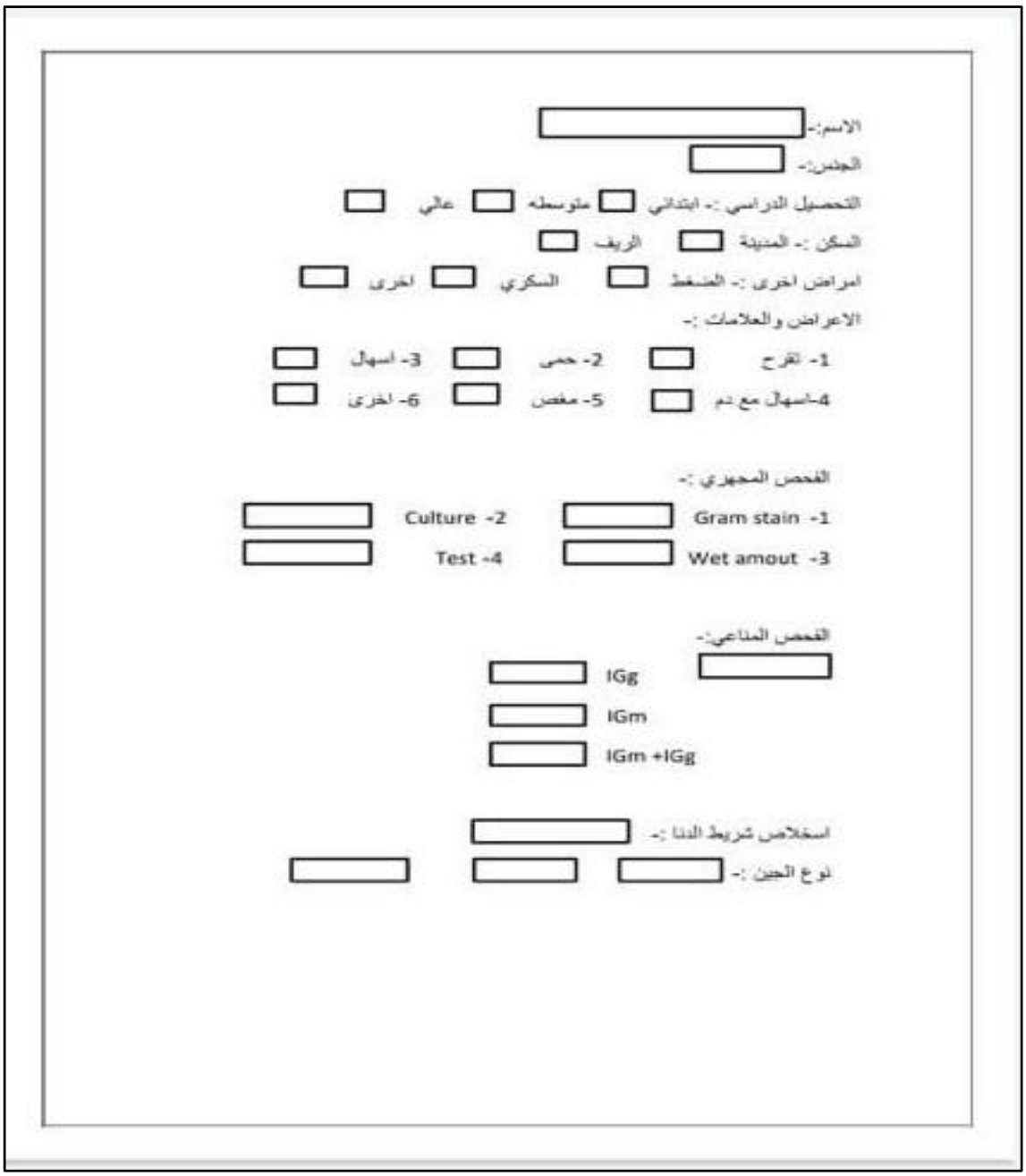
EKLER

EK1. Anket

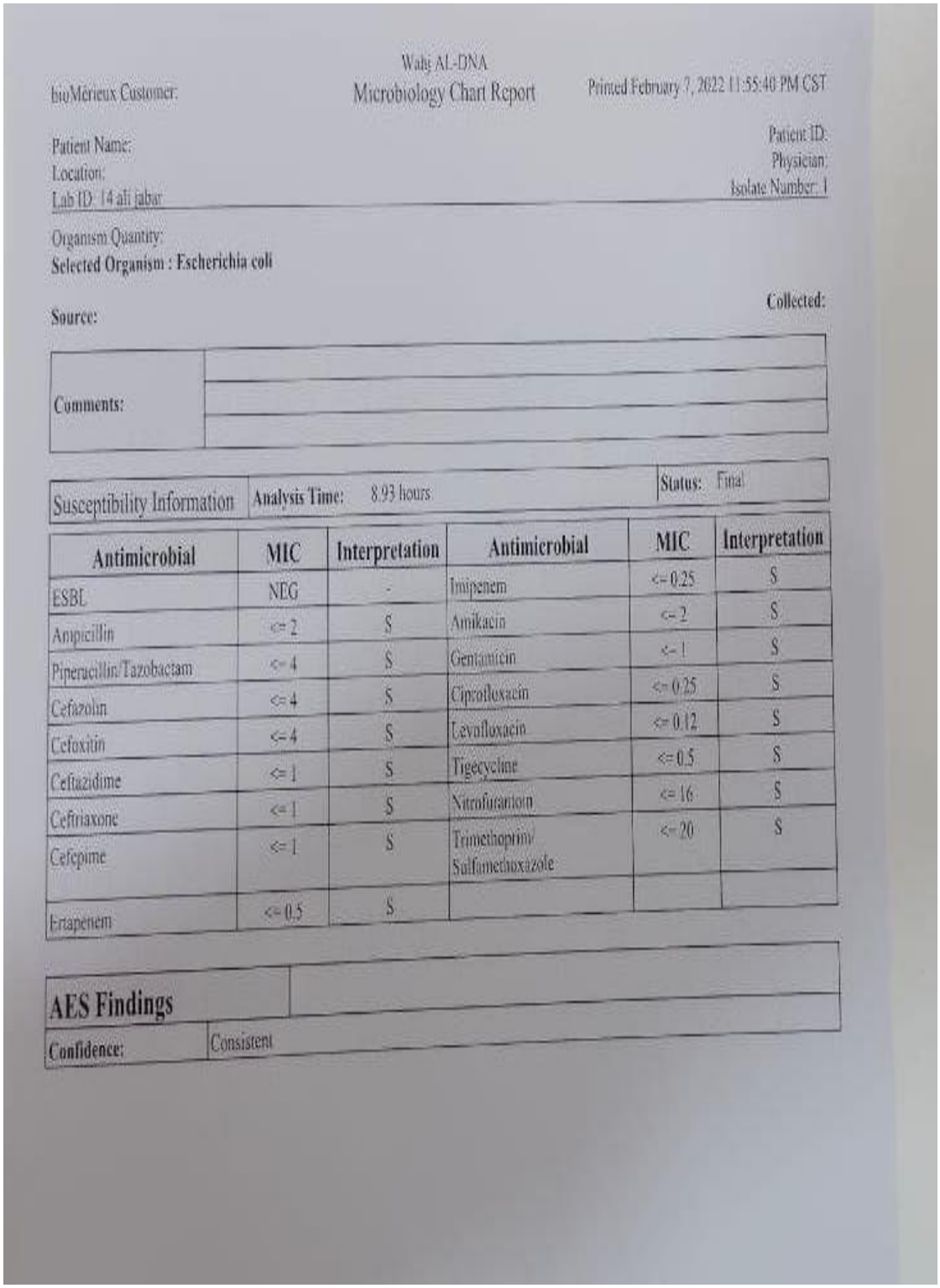
EK 2. Mikrobiyoloji tablo raporu

EK 3. Görevi kolaylaştırmak için resmi bir rapor

EK 1. Anket


الاسم:-
الجنس:-
التحصيل الدراسي :- ابتدائي متوسطه عالي
السكن :- المدينة الريف
امراض اخرى :- الضغط السكري اخرى
الاعراض والعلامات :-
1- تقرح 2- حمى 3- اسهال
4-اسهال مع دم 5- مغص 6- اخرى
الفحص المجهري :-
1- Gram stain 2- Culture
3- Wet amout 4- Test
الفحص المناعي:-
IGg
IGm
IGm +IGg
استخلاص شريط الدنا :-
نوع الجين :-

EK2. Mikrobiyoloji tablo raporu



Wahj AL-DNA

bioMérieux Customer: Microbiology Chart Report Printed February 7, 2022 11:55:40 PM CST

Patient Name: Patient ID:
Location: Physician:
Lab ID: 14 ali jaba Isolate Number: 1

Organism Quantity:
Selected Organism : Escherichia coli

Source: **Collected:**

Comments:	

Susceptibility Information	**Analysis Time:** 8.93 hours	**Status:** Final

Antimicrobial	**MIC**	**Interpretation**	**Antimicrobial**	**MIC**	**Interpretation**
ESBL	NEG	-	Imipenem	<= 0.25	S
Ampicillin	<= 2	S	Amikacin	<= 2	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Gentamicin	<= 1	S
Cefazolin	<= 4	S	Ciprofloxacin	<= 0.25	S
Cefoxitin	<= 4	S	Levofloxacin	<= 0.12	S
Ceftazidime	<= 1	S	Tigecycline	<= 0.5	S
Ceftriaxone	<= 1	S	Nitrofurantoin	<= 16	S
Cefepime	<= 1	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Ertapenem	<= 0.5	S			

AES Findings	
Confidence:	Consistent

EK 3. Görevi kolaylaştırmak için resmi bir rapor



Republic of iraq
Ministry of Health
Misan Health Directorate
Training & Human Development Center
Department Office

جمهورية العراق
وزارة الصحة
دائرة صحة ميسان
مركز التدريب والتنمية البشرية
مكتب القسم

العدد// ١٠٦
التاريخ/ / /٢٠٢٢

إلى / م. الزهراوي الجراحي
م/ تسهيل مهمة

تحية طيبة ...

بناءا على الطلب المقدم من قبل السيد (علي جبار جوار) والمقترن بموافقة السيد المدير العام بتاريخ ٢٠٢٢/٣/٢ يرجى تسهيل مهمة الموما اليه اعلاه لغرض الحصول على العينات والمعلومات الخاصة ببحثه الموسوم (الاسهال عند الاطفال بسبب E.coli) للفترة من ٢٠٢٢/٣/٦ الى ٢٠٢٢/١٢/١٢ وفق الضوابط واصوليا علما ان الموما اليه من منتسبين دائرة صحة ميسان

مع التقدير ...

الدكتورة الصيدلانية
انعام صدام لفته
مدير المركز
٢٠٢٠ / ٣ / ٦

الدكتور الصيدلاني
علي عبد الصاحب عبد الكريم
مدير القسم الفني

صورة عنه إلى :
- شعبة إدارة المعرفة / للحفظ مع الأوليات.

البريد الالكتروني لمركز التدريب والتنمية البشرية / ميسان TDD.MAYSAN@gmail.com

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ali Jabbar Jiwar AL-SHIERAWEE

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Kufe Üniversitesi Bilim Koleji Biyoloji Bölümü	2008-2012