ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İDRAR YOLU ENFEKSİYONU BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU TANIMLANMASI VE BAZI ANTİBİYOTİKLERE VE GENETİK TANIYA DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

ABDULRAHMAN MAHMOOD ATTALLAH

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Abdulrahman Mahmood ATTALLAH tarafından hazırlanan "**İdrar Yolu Enfeksiyonu Bakterilerinin İzolasyonu Tanımlanması ve Bazı Antibiyotiklere ve Genetik Tanıya Duyarlılıklarının Belirlenmesi**" adlı tez çalışması 07/06/2022 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 : Doç. Dr. Mehmet SEZGİN

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Wael AL-SAMARRAI

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Mehmet SEZGİN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr.Öğr.Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç.Dr.Atilla ÇAKIR
Bitkileri Anabilim Dalı
Bingöl 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 "**İdrar Yolu Enfeksiyonu Bakterilerinin Izolasyonu Tanımlanması ve Bazı Antibiyotiklere ve Genetik Tanıya Duyarlılıklarının Belirlenmesi**" 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 (07/06/2022).

Abdulrahman Mahmood ATTALLAH

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İDRAR YOLU ENFEKSİYONU BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU TANIMLANMASI VE BAZI ANTİBİYOTİKLERE VE GENETİK TANIYA DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Abdulrahman Mahmood ATTALLAH

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet SEZGİN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Wael AL-SAMARRAI

Bu tez çalışmasında Haziran -Ekim 2021 tarihleri arasında, Bağdat'taki Yermuk Eğitim Hastanesi ve Al-Imamein Al-Kadhimaein Hastanesi'ne başvuran ve yaşları (1-60) arasında değişen, idrar yolu enfeksiyonu olduğundan şüphelenilen hastalardan 100 adet, idrar örneği toplanmıştır. Bakteri kültürü sonuçlarına göre %55 oranında idrar yolu enfeksiyonu için pozitif sonuç alınmıştır. Yapılan izolasyon ve teşhis çalışmalarına göre görülen bakteriler arasından *Escherichia coli* tipinin baskın olduğunu gözlemlenmiştir (%54,5). *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinde ise bu oran en düşük (%3,6) olmuştur. İzole edilen bakterilerin, 8 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıkları araştırılmıştır. Kanlı agarda yapılan fenotipik saptama ile 14 izolatın hemoliz üzerinde %46,66 oranında uygun oldukları tespit edilmiştir. Hemolizden sorumlu genin bir virülans geni olup olmadığını doğrulamak amacıyla da polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile genetik bir tespit çalışması yapılmıştır.

2022, 58 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Antibiyotik, Bakteri, Duyarlılıklar, PZR, İdrar yolu enfeksiyonu

ABSTRACT

Master of Science Thesis

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF URINARY TRACT INFECTION BACTERIA AND THEIR SUSCEPTIBILITY TO SOME ANTIBIOTICS AND GENETIC DIAGNOSIS

Abdulrahman Mahmood ATTALLAH

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

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet SEZGİN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Wael AL-SAMARRAI

In this thesis study, urine samples (100) was obtained from patients aged (1-60) who were admitted to Yermuk Teaching Hospital and Al-Imamein Al-Kadhimaein Hospital in Baghdad between June and October 2021 and were suspected of having urinary tract infection. According to the bacterial culture results, 55% positive results were obtained for urinary tract infection. It was observed that *Escherichia coli* type was dominant among the bacteria seen according to the isolation and diagnosis studies (54,5%). This rate was the lowest (3,6%) in *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. The susceptibility of the isolated bacteria to 8 different antibiotics was investigated. With the phenotypic determination made on blood agar, it was determined that 14 isolates were suitable on hemolysis with a rate of 46,66%. In order to confirm whether the gene responsible for hemolysis is a virulence gene, a genetic detection study was carried out by polymerase chain reaction technique.

2022, 58 pages

Keywords: Antibiotics, Bacteria, Sensitivity, PZR, Urinary Tract

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışma konusunun seçiminden, çalışmanın sonlandırılmasına kadar her aşamada desteğini esirgemeden, bilgi ve tecrübesini her zaman bize aktaran, Tez danışmanım Doç.Dr. Mehmet SEZGİN'e sabrı, anlayışı ve rehberliği için teşekkür ederim. İkinci danışmanım Dr. Wael Muhammed'e en derin şükranlarımı sunarım.

Ayrıca beni her zaman destekleyen bu hayattaki en büyük şansım olan ve beni desteklemekten asla vazgeçmeyen aileme teşekkür ederim.

Abdulrahman Mahmood ATTALLAH
Çankırı, Haziran 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **viii**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **4**
2.1 İdrar Yolu Enfeksiyonları **4**
2.2 İYE Oluşumuna Sebep Olan Faktörler **6**
2.3 Antibiyotik Direnci **8**
2.4 Bakteriyel Virülans Faktörleri **11**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **13**
3.1 İzolasyon ve Tanımlama Çalışmaları **13**
3.1.1 Besiyerleri **13**
3.1.2 Solüsyonlar ve miyarların hazırlanması **15**
3.1.3 Mikroskobik inceleme **17**
3.1.4 İzolasyon ve kültür bakteri **18**
3.1.5 Biyokimyasal tanımlama: **19**
3.2 Antibiyotik duyarlılık testleri **20**
3.3 İzolatların VITEK 2 ile Tanımlanması **21**
3.3.1 Vıtek 2 kompakt sistem tarifi **21**
3.3.2 Örnek hazırlama **22**
3.3.3 Bakteriyal süspansiyonun VITEK kartlarına yüklenmesi **22**
3.3.4 Kart izolasyonu ve inkübasyonu **22**
3.3.5 Optik sistem **23**
3.3.6 Test reaksiyonu **23**
3.4 Hemolisin Fenotip Tespit **23**
3.5 Primer Tasarımı **23**

3.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Malzemeleri 24
3.6.1 Genomik DNA Ekstraksiyonu ve Saflaştırma Yöntemi 24
3.6.2 PZR karışımının hazırlanması 26
3.6.3 PZR termo döngü koşulları 26
3.6.4 Agaroz jel ile dna ürününün analizi 27
4. BULGULAR 29
4.1 İzolasyon ve Tanımlama 29
4.1.1 Bakteri teşhisi 29
4.2 İzole Bakteri Türlerin Sayıları ve Yüzdeleri 32
4.3 İYE'lerin Cinsiyete Göre Dağılımı 34
4.4 Yaş ile İYE İlişkisi 34
4.5 Antibiyotik Hassasiyet Testi 35
4.6 Vıtek® 2 Sistem ile Onaylayıcı Tanımlama 39
4.7 *E. Coli* İzolatları Üreten Hly'nın Belirlenmesi 39
4.8 *E. Coli* İzolatları Üreten Hly'nın Genotipik Olarak Belirlenmesi 40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 42
KAYNAKLAR 48
EKLER 58
EK. 1 Etik Onay 58
ÖZGEÇMİŞ 59

SİMGELER DİZİNİ

+	Artı
Bç	Baz çifti
°C	Celcius
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
-	Eksi
EtBr	Etidyum Bromür
gr	Gram
İYE	İdrar Yolu Enfeksiyonu
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
/	Taksim
TBE	Tris Borat EDTA Tamponu
vd	ve diğerleri
%	Yüzde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 İdrar yolu enfeksiyonları epidemiyolojisi (Flores-Mireles *et al*. 2015) 7
Şekil 3.1 Mikroskop yoluyla idrardaki WBC ve RBC 18
Şekil 3.2 Çalışmada kullanılan VİTEK 2 Compact (bioMèrieux, France) tam otomatik identifikasyon ve duyarlılık sistemi 22
Şekil 3.3 PZR reaksiyon karışımının karıştırılması 26
Şekil 3.4 Her kuyucuğa 5 µL PZR ürünü enjekte edin 28
Şekil 4.1 Gram boyama (1) Gram pozitif / (2) Gram negatif görüntüsü 30
Şekil 4.2 *Escherichia coli* izolatının (A) EMB agar (B) Kan agar ortamındaki görüntüsü 31
Şekil 4.3 *Klebsiella pnömonisine* izolatının (A) MacConkey agar (B) Kan agar ortamındaki görüntüsü 31
Şekil 4.4 *Enterobacter cloacae* izolatının (1) MacConkey agar (2) Kan agar ortamındaki görüntüsü 31
Şekil 4.5 *Staphylococcus aureus* izolatının (1) Manitol tuz agar (2) Kan agar ortamındaki görüntüsü 32
Şekil 4.6 Bakteri yüzdesi 33
Şekil 4.7 *E. Coli* için antibiyotik inhibisyon çapları 37
Şekil 4.8 *K. pneumoniae* için antibiyotik inhibisyon çapları 37
Şekil 4.9 *Staphylococcus aureus* için antibiyotik inhibisyon çapları 38
Şekil 4.10 *Proteus mirabilis* için antibiyotik inhibisyon çapları 38
Şekil 4.11 *Enterobacter cloacae* için antibiyotik inhibisyon çapları 38
Şekil 4.12 *P. aeruginosa* için antibiyotik inhibisyon çapları 39
Şekil 4.13 (1) Hemolisin için *E. coli* üreticisi (2) Hemolisin için *E. coli* üretmeyicisi 40
Şekil 4.14 E.coli izolatlarında hly geninin (1177) PZR ürününün jel elektroforezi a, M= DNA moleküler boyut belirteçleri (100 - 2000 bç), 1 ila 11 izolat sayısını temsil eder 41
Şekil 4.15 E.coli izolatlarında hly geninin (1177) PZR ürününün jel elektroforezi a, M= DNA moleküler boyut belirteçleri (100 - 2000 bç), 12 ila 30 izolat sayısını temsil eder 41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan antibiyotik disklerinin özellikleri ve yorumlama standartları 21
Çizelge 3.2 PZR da kullanılan ileri ve geri kullanılan ileri ve geri primer dizileri (Johnson and Stell 2000) 23
Çizelge 3.3 Hly genini amplifiye etmek için takip edilen PZR programı 277
Çizelge 4.1 Gram negatif bakteriler için biyokimyasal testler 29
Çizelge 4.2 Erkek ve kadınlarda Üropatojenik *E. Coli* ve diğer bakteriyal patojenlerin sıklığı 34
Çizelge 4.3 Hasta yaş grubuna göre İYE ile enfeksiyonun dağılımı ve yüzdeleri 35
Çizelge 4.4 Bakteriler izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç duyarlılık ve orta duyarlılık yüzdeleri 36
Çizelge 4.5 Vitek 2 sistemiyle bu çalışmada tanımlanan – izole bakteri türleri 38

1. GİRİŞ

İdrar yolu enfeksiyonu (İYE), toplum hekimliği uygulamalarında en yaygın ikinci enfeksiyöz sunumdur. Dünyada, her yıl yaklaşık 150 milyon kişiye İYE teşhisi konmakta olup, İYE'ler komplike olmayan veya komplike olanlar şeklinde sınıflandırılmaktadır (Stamm and Norrby 2001). Komplike olmayan İYE'ler, yapısal ve işlevsel olarak normal idrar yolları olan ve cinsel olarak aktif sağlıklı kadın hastalarda ortaya çıkmaktadır. Komplike İYE'ler, tedavi ihtiyacını uzatan veya terapötik başarısızlık ihtimalini artıran komorbid durumlarla ilişkili olanlardır. Bu koşullar, idrar akışını engelleyen idrar yolu anormalliklerini, yabancı bir cismin varlığını (örneğin, kalıcı kateter, taş vb.) veya çoklu ilaca dirençli patojenlerle enfeksiyonu içermektedir. Erkek hastalarda İYE komplike olarak kabul edilmektedir. Üst üriner sistem tutulumu olmasına rağmen, sağlıklı bir hastada ortaya çıktığında piyelonefrit komplikasyonsuz olarak kabul edilebilir (Stapleton 2003). İdrar yolu enfeksiyonu sadece alt idrar yollarını veya hem üst hem de alt yolları ihtiva edebilir. Sistit terimi, dizüri, sıklık ve bazen suprapubik hassasiyet içeren sendromu tanımlamak için kullanılmıştır. Akut piyelonefrit, yan ağrısı veya hassasiyeti veya her ikisi ile karakterize klinik sendromu ve sıklıkla dizüri, sıkışma ve sıklık ile ilişkili ateşi tanımlamaktadır (Mandell *et al.* 2005).

İdrar yolu enfeksiyonlarının %95'inden fazlasına tek bir bakteri türü neden olmaktadır. *E. coli*, akut enfeksiyonda en sık enfeksiyon yapan organizmadır (Ronald 2002). Klebsiella, Staphylococci, Enterobacter, Proteus, Pseudomonas ve Enterococci türleri yatan hastalardan daha sık izole edilirken, ayakta tedavi gören bir popülasyonda *E. coli* ağır basmaktadır (Bronsema *et al*. 1993). *Corynebacterium urealyticum* önemli bir hastane patojeni olarak kabul edilmiştir (Soriano *et al*. 1990). Anaerobik organizmalar nadiren idrar yollarında patojendirler (Jacobs *et al*. 1996). Koagülaz Negatif Stafilokoklar, bazı raporlarda idrar yolu enfeksiyonunun yaygın bir nedenidir. *Staphylococci saprofiticus*, cinsel olarak aktif yaştaki genç kadınlarda enfeksiyona neden olma eğilimindedir (Schneider *et al*. 1996).

Üriner sistem, idrarı toplayan ve depolayan ve daha sonra onu vücut dışına atan organları temsil etmekte olup; böbrekleri, üreterleri, mesaneyi ve üretrayı içermektedir. İYE,

idrarda bakteri varlığına bağlı semptomların varlığından septiseminin bol olduğu ciddi böbrek enfeksiyonuna kadar değişen çeşitli klinik durumlar için kullanılan bir terimdir. Ayrıca, idrar yolu enfeksiyonu, idrarda 10^5 hücre/mL'den fazla bakteri bulunması olarak tanımlanmakla beraber, idrar yolunun bakteri istilasına neden olup enfeksiyona yol açmaktadır (Sawalha 2009).

Enfeksiyona genellikle bakteri ve virüsler (adenovirüs gibi) ve Schistosoma haematobium gibi parazitler ve Candida albicans gibi mayalar neden olmaktadır. Yaygın patojenler arasında Gram negatif *E. coli*, Klebsiella, Pseudomonas, Serratia ve *Staphylococcus aureus* gibi bir gram boya için pozitif bakteriler bulunur (Mansour *et al*. 2009). *E. coli*, üzere idrar yolu enfeksiyonunda en yaygın patojenik bakteridir. En az görülen patojenler, özellikle bağışıklığı baskılanmış kişiler için oldukça riskli olan Mycobacterium tuberculosis ve çeşitli anaerobik bakterileri içermekte olup, nefrit ve sistit gibi ciddi enfeksiyon riskinde artışa yol açarlar (Griebling 2007).

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), bakterilerin idrar yollarının güçlü doğal savunmalarını alt etmeleri sonrasında idrar yollarındaki bir veya daha fazla yapının enfekte olduğu bir durumdur. İYE'ler tüm enfeksiyonların en yaygın olanları olup, bireyin hayatının herhangi bir döneminde ortaya çıkabilirler (Santo *et al*. 2006). İYE'lerin en önemli nedeni, , özellikle toplum kökenli İYE'lerin %80 kadarını oluşturan Escherichia coli olmak üzere Enterobacteriaceae familyasına ait Gram-negatif bakterilerdir. Geçmişten bugüne hHemolisin, sitotoksik nekrotizan faktör, aerobaktin, biyofilm ve farklı yapışma türleri gibi çeşitli virülans faktörleri, İYE'lere neden olan *E. coli* patojenitesinden sorumlu olmuştur (Usein *et al*. 2001).

Hemolisin, delik oluşturma faaliyeti ve çeşitli insan hücre tipleri için sitotoksik olması nedeniyle eritrositlerin ozmotik lizizini indükleyebilen bir proteindir. *E. coli*, hücre dışı protein (α-hemolisin), hücreye bağlı protein (β-hemolisin) ve nalidiksik aside dirençli bir mutant (γ-hemolisin) tarafından üretilen bir hemolisin dâhil olmak üzere çeşitli hemolisin türlerini üretebilir (Wyborn *et al.* 2004, Naveen and Mathai 2005).

Bu çalışmanın temel amacı, bakterilerin fenotipik ve biyokimyasallarını izole etmek ve teşhis etmenin yanı sıra izole edilen bakterilerin bazı antibiyotiklere direncini test etmek ve ayrıca polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tekniğini kullanarak genetik tanı ortaya koymaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 İdrar Yolu Enfeksiyonları

İdrar yolu enfeksiyonları, kadınları etkileyen dünya çapında en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Kadınların yaşamları boyunca İYE geçirme riskinin %50'den fazla olduğu değerlendirilmekte olup (Griebling 2005), yaklaşık %25'inde enfeksiyonun tekrarlaması söz konusudur (Scholes *et al*. 2000). Kodner and Thomas (2010), İYE'nin ya piyelonefrit (üst İYE) ya da sistit (alt İYE) olarak gösterilebileceğini ve muhtemelen komplike veya komplike olmayan olarak da ayrılabileceğini belirtmişlerdir. Karmaşık İYE ile ilgili olarak, üriner sistemdeki yapısal veya işlevsel bir anormallik veya altta yatan bir hastalık ile ilişkili olmakla beraber bunların her biri daha sonra enfeksiyon kapma veya tedavi başarısızlığı riskini artırabilir. Öte yandan, komplike olmayan İYE'ler, diğer sağlıklı kişilerde sporadik, toplum kökenli piyelonefrit ve sistit vakaları olup, yine de daha ciddi sonuçlara yol açabilir ve buna göre ek değerlendirme gerektirmektedir.

Armbruster *et al*. (2018), idrar yolu enfeksiyonlarının tüm dünyada en sık görülen sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar arasında olduğunu belirtmiş olup, uygun şekilde yönetilmediği takdirde, İYE'ler şiddetli sistit, piyelonefrit, bakteriyemi ve sepsise ilerleyebilir. Bu enfeksiyonlar, antibiyotik reçetelerinin önemli bir yüzdesinden sorumlu oldukları uzun süreli bakım tesislerinde özellikle baskındır. Bir İYE'nin şiddeti, kendi başına patojenin virülansına ve konağın duyarlılığına bağlıdır (Hannan *et al*. 2012).

Enfeksiyona duyarlılık, patojene, maruz kalma oranına ve kişiye bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik göstermektedir. Genetik yatkınlık, sadece nadir görülen monogenetik bozukluklar için değil, aynı zamanda hastalıkla ilişkili genetik varyantların öncelikle antibakteriyel savunmada yer alan genlerin ekspresyonunu kontrol ettiği idrar yolu enfeksiyonu (İYE) gibi yaygın enfeksiyonlar için de gereklidir. İdrar yolu enfeksiyonları doğuştan gelen bir kaskadı aktive ederek antibakteriyel efektör mekanizmaların doku homeostazını korurken enfeksiyonu temizlemesine izin vermektedir. Örneğin, üropatojenik Escherichia coli, insan böbrek hücrelerinde 1000'den fazla genin ifadesini değiştirmekte ve genetik olarak yetkin farelerde, böbrek veya mesane enfeksiyonu,

bakteri türüne bağlı olarak en az 500 genin ifadesini değiştirmektedir. Tekrarlayan İYE'ler, daha önceki bir İYE epizodunun kapsamlı bir şekilde iyileşmesinden sonra gelen semptomatik enfeksiyonlardır (Hooton, 2001). Elli beş yaşından büyük kadınların yarısından fazlasının ve genç kadınların yaklaşık %36'sının bir yıl içinde tekrarlayan İYE yaşadığı tahmin edilmektedir (Ikähelmo *et al*. 1996).

Hastalığa yakalanan kadınların tekrar hastalığa yakalanma olasılığı daha yüksek olup, yapılan çalışmalara göre, hücrelerde bakterilere yardımcı faktörlerin varlığı, bakterilerin yapışmasına yardımcı olan üriner sistem duvarını kaplaması ve daha sonra üriner sistemin içine bulaşması nedeniyle kadınlarda enfeksiyonun tekrarlama riskini göstermektedir. Bu konu aynı zamanda bu hastalıktan sürekli olarak etkilenen kadınlar arasında benzer kan gruplarının varlığıyla da bağlantılıdır (Jantausch *et al*. 1994), hastalıkla enfeksiyonda rol oynayabilecek özel kan grupları kalıpları olduğunu belirtmiştir. Hastalığın prevalansı, kötü sağlık koşullarının ve yetersiz beslenmenin birçok enfeksiyonun insidansını etkilediği coğrafi sağlık koşullarına göre değişiklik göstermektedir (Fargason *et al*. 1995).

Develay *et al.* (1996) belirttiği gibi, kötü sağlık koşulları, yüksek enfeksiyon insidansına ve özellikle bu enfeksiyonlarla ilgili olanlar olmak üzere birçok hastalığın yayılmasına neden olmuştur. Birçok çalışma, böbrek hasarının nedenlerinden birinin idrar yolu enfeksiyonu olduğunu ve diyabet hastası olan kadınların, daha önce idrar yolu enfeksiyonu geçirmiş, özellikle üst kısmında idrar yolu enfeksiyonu olan kadınlarda, İYE'den muzdarip olmayanlarla karşılaştırıldığında, böbrek hasarının diğerlerine göre daha yaygın olduğunu göstermiştir (Wullt *et al.* 2002).

İdrar yolu enfeksiyonu patolojisinin sadece akut hastalık dönemi ile sınırlı olmadığı, kronik hastalığa kadar uzandığı tespit edilmiştir. Böbreklerin işlev görmemesine neden olan böbrek yaraları da bu böbrek izlerinin küçüklerde ve çocuklarda tehlikeli olmasına neden olmaktadır. Bu böbrek yaraları, özellikle idrar yolu enfeksiyonu tanısı ve takip edilen tedavi planında gecikme olursa ileri bir aşamaya gelebilir (Jehad *et al*. 2000). Benzer şekilde Alhamdany (2018) tarafından ortaya konan sonuçlar Babil vilayetinde tekrarlayan İYE hastalarının %63,7'sinin kadın olduğunu ortaya koymuştur. Bundan böyle, tekrarlayan İYE yönetimi ve önlenmesi, pratisyen hekimler ile birlikte tüm

doktorlar ve klinisyenler için büyük önem taşımaktadır (Aydın *et al*. 2015). Nosseir *et al*. (2012) tekrarlayan İYE'yi, son 6 ayda ikiden fazla komplikasyonsuz İYE atağı veya son bir yıl içinde üçten fazla sayıda gerçekleşmesi olarak tanımlamıştır.

2.2 İYE Oluşumuna Sebep Olan Faktörler

İYE'ler ile farklı yaş grupları arasındaki ilişkinin incelenmesi alanında, Eltahawy and Khalaf'ın (1988) İYE'li hastalar üzerinde yaptıkları çalışmanın sonuçları, enfeksiyon sıklığının yaşlılarda diğer yaş gruplarına göre daha fazla olduğunu bildirmiştir. Diğer bir çalışmada, erkek veya kadın olsun, yaşlıların %40'ından fazlasının, özellikle asemptomatik olmak üzere İYE geliştirme riski taşıyan en büyük grup olduğu bulunmuş olup (Orenstein and Wong 1999), eğer bu hastalar tedavi görmezlerse hastalığa daha sonra eşlik eden akut sistit olmuştur. Gençler ise hastalıktan en az etkilenen yaş grubu olmuşlardır .Cinsiyetin İYE'lerle ilişkisine gelince, üreterin kısalığı ve anüsün üriner açıklığa yakınlığı nedeniyle bakterilerin yükselmesini kolaylaştırdığı için, kadınlar İYE'lere erkeklerden daha duyarlıdır (Hoberman and Wald 1997).

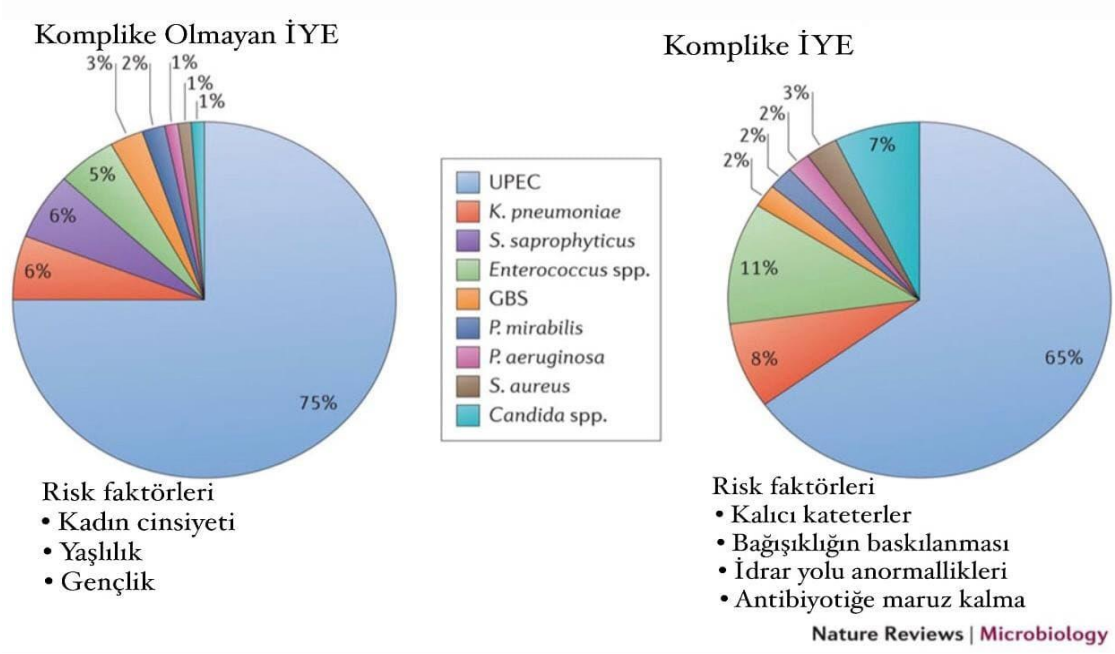
Raka *et al*. (2004), erkeklerde enfeksiyon oranının (%25,4), kadınlarda (%74,6) olduğunu belirtmiş ve bu sonuç, Cohen *et al*. (2010) tarafından İYE hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada kadınlarda enfeksiyonun erkeklerden daha yüksek olarak görüldüğü doğrulanmıştır. Mehr *et al*. (2004), Avustralya'da yaptıkları bir çalışmada İYE ile enfekte olan erkeklerin yüzdesi (%39), enfeksiyon oranının kadınlarda (%56) olduğunu belirtmişlerdir.

Mittal *et al*. (2014), idrar yolu enfeksiyonu insidansının kız çocuklarında (%65), erkek çocuklarında (%35) olduğunu belirtmiştir. Başka bir çalışmada ise 14 yaşından önce bu enfeksiyon riskinin erkeklerde (%1 ila 3), kadınlarda ise (3 ila 10) oranında tahmin edildiği bildirilmiştir (Chang and Shortliffe 2006).

Yenidoğanlarda ve bebeklerde İYE semptomları genellikle belirsiz ve spesifiktir, bu nedenle İYE'leri mümkün olduğunca çabuk teşhis etmek ve tedavi etmek, ilerleyici böbrek hasarına neden olabilecek böbrek dokularında hasarı önleyebilir (Smellie *et al*. 1998). Ayrıca çocukluktan itibaren inflamasyonun erken yaşta teşhis edilmesi, idrar

yollarındaki anormalliklerin saptanması için bir gösterge işlevi görürken, diğer yandan böbrek gelişimi sırasında yaralanmalardan korunmada önemli olarak kabul edilmektedir (Schlager 2001). İYE'ye örneğin idrar yolunu kolonize eden herhangi bir patojen (parazitler, mantarlar ve virüsler) neden olabilse de, çoğu durumda bakteriler, özellikle de bağırsak kaynaklı bakterilerdir (Wullt 2003).

Komplike olmayan ve komplike İYE'lere ilişkin en yaygın etken madde üropatojenik *Escherichia coli*'dir, *Klebsiella*, *Pseudomonas* ve *Staphylococcus aureus* gibi gram pozitif bakteriler bulunur (Mansour *et al*. 2009). *E. coli*, Ramesh *et al*. (2008) tarafından belirtildiği gibi, idrar yolu enfeksiyonunda en yaygın patojenik bakteri türüdür. En az görülen patojenler arasında, nefrit gibi ciddi enfeksiyon riskinde artışa yol açtıklarından, özellikle bağışıklığı baskılanmış kişiler için yüksek risk taşıyan *Mycobacterium tuberculosis* ve çeşitli anaerobik bakteriler bulunur (Griebling 2007).



Şekil 2.1 İdrar yolu enfeksiyonları epidemiyolojisi (Flores-Mireles *et al*. 2015)

Gram-negatif ve gram-pozitif bakteri ve mantarlar dâhil olmak üzere birçok patojen İdrar yolu enfeksiyonlarına (İYE'ler) neden olur. Komplike olmayan İYE'ler tipik olarak kadınları çocukları ve diğer şekilde sağlıklı olan yaşlı hastaları etkilemektedir. Komplike İYE'ler genellikle kalıcı kateterler idrar yolu anormallikleri bağışıklığın baskılanması

veya antibiyotiklere maruz kalma ile ilişkilidir. Komplike olmayan ve komplike İYE'ler açısından en yaygın nedensel ajan üropatojenik *Escherichia coli*'dir (UPEC). Komplike olmayan İYE'ler için diğer nedensel ajanlar (Prevalans sıralamasına göre) *Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus saprofit, Enterokok faecalis*, grup B *Streptococcus, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* ve *Candiokok aureus* ve pp.'dir. Komplike İYE'lere ilişkin diğer nedensel ajanlar (Prevalans sıralamasına göre) *Enterokok spp. K. pneumoniae, Candida spp., S. aureus, P. mirabilis, P. aeruginosa ve* grup B *Streptococcus*'dur.

2.3 Antibiyotik Direnci

Antibiyotik direnci çok eski tarihten kalmadır ve "direnç gösteren" dinamik ve tırmanan bir sorundur. Küresel direncin nedenleri arasında aşırı nüfus, artan küresel göç, kliniklerde ve hayvan üretiminde antibiyotik kullanımının artması, seleksiyon baskısı, kötü sanitasyon, vahşi yaşamın yayılması ve kötü kanalizasyon atık sistemi yer almaktadır (Marshall and Levy 2011, Singer *et al*. 2016). Antibiyotik tedavisi enfeksiyonlarla mücadelede kullanılan modern tıbbın temel yaklaşımlarından biridir. Antibiyotiklerin "altın çağı" 1930'lardan 1960'lara kadar uzanarak birçok antibiyotiği meydana getirmiştir (Nathan and Cars 2014) . Ne yazık ki, araştırmacılar, ortaya çıkan dirençli patojenler karşısında antibiyotik keşif hızını koruyamadıkları için bu dönem sona ermiştir. Yeni antibiyotikler geliştirme veya keşfetme konusundaki kalıcı başarısızlık ve antibiyotiklerin adil olmayan kullanımı, antibiyotik direncinin ortaya çıkmasıyla ilişkili zemin hazırlayan faktörlerdir.

Antimikrobiyal direnç, insan, hayvan ve çevre sağlığına yönelik artan endişelere yol açan ciddi bir küresel tehdit oluşturmaktadır. Bunun nedeni, çoklu ilaca dirençli bakterilerin veya "süper böceklerin" ortaya çıkması, yayılması ve kalıcılığıdır (Davies J and Davies 2010). M.D.R. bakterileri; hayvan, insan ve çevre üçgeni veya nişi boyunca bulunur ve bu üçlüde bu patojenlerin birbiriyle bağlantılı paylaşımı vardır. "Küresel direniş" veya Antimikrobiyal direncin makul nedenleri arasında hayvanlarda (gıda, evcil hayvanlar, suda yaşayanlar) ve insanlarda aşırı antibiyotik kullanımı, reçetesiz satılan antibiyotikler, artan uluslararası seyahat, kötü sanitasyon/hijyen ve metabolize olmayan antibiyotiklerin

salınması veya kalıntılarını gübre/dışkı yoluyla çevreye vermesi yer almaktadır. Bu faktörler, toplumda M.D.R. bakteriyel enfeksiyonlarının ortaya çıkması için genetik seçilim baskısına sebep olurlar. Son zamanlarda, hayvanlarda antimikrobiyallerin küresel tüketimi, kıtalar genelinde antibiyotik kullanımının önümüzdeki yıllarda ekonomik ve halk sağlığı üzerinde etkileri olacak hot pointleri göstermiştir. Antibiyotikler, besin hayvanlarında özellikle sığır, tavuk ve domuzlarda yaygın olarak kullanılmakta olup 2030 yılında bu tür kullanımın dünyanın en kalabalık ülkelerinde %67'ye kadar artacağı tahmin edilmektedir (Van Boeckel *et al*. 2015).

Bir antimikrobiyal maddenin etkin kullanımı, bu bileşiğin ilk kullanıldığı zamandan itibaren gelişen olası tolerans veya direnç nedeniyle zayıflık gösterir. Bu durum; bakteri, virüs, mantar ve parazit enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan antimikrobiyal ajanlar için geçerlidir. Bu gelişen direnci çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalar yönlendirebilir. Direncin ortaya çıkışı ve dağılımıyla ilişkili tüm mekanizmaların karmaşıklığı büyütülmemelidir. Ayrıca, bu belirli konularda temel verilerin eksikliği, direniş gelişimini yönetmek için önemli başarıların eksikliğine neden olan hayati bir endişe kaynağıdır. Tüm dünyada, çeşitli enstitüler ve ajanslar bu ciddi küresel halk sağlığı sorununu kabul etmişt, pek çok tavsiye ve karar önerilmiş, birkaç rapor da yazılmış, ancak şu ana kadar çok az ilerleme kaydedilmiştir. Ne yazık ki, antibiyotik direncindeki artış kalıcı bir sorundur (Roca *et al*. 2015).

Antibiyotiklerin keşfi, insanlık tarihinde tıpta devrim yaratan ve sayısız hayat kurtaran belirleyici bir an olmuştur. Ancak ne yazık ki, bu "sihirli mermilere", ortaya çıkan bu dirençli patojen suşları da eşlik etmiştir. Şu anda, tıp uzmanları antibiyotik öncesi çağa dönüş konusunda gerçek endişeleri dile getirmektedirler. Mevcut bakteri genomlarının analizinden sonra, neyse ki 20.000'in üzerinde potansiyel direnç geninin bulunduğu sonucuna varılmış; bununla birlikte, çeşitli mikroplardaki fonksiyonel direnç belirleyicilerin sayıca çok daha az olduğu ortaya konmuştur (Davies J and Davies 2010).

1950'lerin sonlarında ve 1960'ların başlarında, ilk kez enterik bakteriler, yani *Salmonella, Shigella* ve *Escherichia coli* arasında çoklu antimikrobiyal ajanlara karşı antibiyotik direnci tespit edilmiştir. Bu dirençli suşlar, başta gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere

büyük klinik ve ekonomik kayıplara ve can kayıplarına neden olmuştur. Bununla birlikte, gelişmiş dünyada, enterik mikroplarla sınırlı hafif bir sağlık sorunu olarak kabul edilmiştir. Bu yanılgı 1970'lerde *Neisseria gonorrhoeae* ve *Hemophilus influenza*'nın ampisiline dirençli olduğunun görülmesiyle değişmiştir. Aynı zamanda *Hemophilus* vakasında tetrasiklin ve kloramfenikole de direnç gösterdiği bildirilmiştir. Antimikrobiyallerin artan kullanımı nedeniyle, özellikle bu ilaçlara reçetesiz olarak ücretsiz olarak erişilebildiği gelişmekte olan dünyada direnç artmıştır. Ek olarak, yoksun hijyen ortamları direncin bulaşmasını kolaylaştırmış ve pek az sağlık bakım fonları yeni ve etkili antibiyotiklere erişimi sınırlamıştır (Rossolini *et al*. 2014).

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (C.D.C.), Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği, Dünya Ekonomik Forumu ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) gibi çok sayıda önemli kuruluş, antibiyotik direncini "küresel bir halk sağlığı sorunu" olarak ilan etmiştir (Michael *et al*. 2014). Dünya Sağlık Asamblesi, DSÖ'den antibiyotik direnci sorunuyla mücadele için küresel bir eylem planı önermesini istemiştir. Konuyla ilgili bir diğer değerli bilgi, "Gelişen antimikrobiyal direnç tehdidi - eylem seçenekleri" başlıklı bir kitabın yakın zamanda yayınlanması olmuştur. Birleşik Krallık'ta insanlar, antibiyotik direnciyle mücadele için yeni çözümler yaratmak için devlet destekli 10 milyon sterlinlik bir ödül (Boylam Ödülü yarışması) için oy kullanmışlardır (Payne *et al*. 2015). Amerika'da, 2015 yılına kadar, Başkan Barack Obama, ABD Başkanı'nın, bilim ve teknoloji danışmanları konseyi tavsiyeleri altında, Ulusal Güvenlik Konseyi'ne antibiyotik direnciyle mücadele için kapsamlı bir ulusal eylem planı hazırlamasını emretmiştir (Landers and Kavanagh 2016).

Küresel antibiyotik direnci, yön değiştirebilecek olsa da, hiçbir düşüş belirtisi göstermemektedir. Antibiyotik direncinin etiyolojisi çok yönlü olmakla beraber sonuçları dünya çapında bir etki yaratmktadır. Antibiyotik direncinin çeşitli yönlerini tanımlamak için çok sayıda girişimde bulunulmuş ve bu küresel soruna olası çözümler denenmiştir. Ancak, özellikle dünya çapında siyasi düzeyde, temelde eşgüdümlü bir kampanya eksikliği söz konusudur (Prestinaci 2015). Antibiyotikler, sosyal ve tıbbi gelişimde benzeri görülmemiş bir rol oynamış olup şu anda antibiyotikler tüm sağlık sistemlerinde zorunludur. Modernize edilmiş tıbbın başarısı, yani organ nakli, kanser tedavisi, erken

doğmuş bebeklerin yönetimi veya ileri düzey büyük ameliyatların çokluğu, bakteriyel enfeksiyonları kontrol etmek için etkili antibiyotik tedavisi olmadan mümkün olmayabilirdi. Laxminarayan vd. (2013) tarafından işaret edildiği gibi, eğer etkili küresel eylem planları yakında kabul edilmezse, sosyal, tıbbi ve ekonomik beklentiler için korkunç komplikasyonlarla karşılaşılması olasıdır.

2.4 Bakteriyel Virülans Faktörleri

Bakteriyel patojenler tarafından salınan virülans faktörlerinin, doğuştan gelen ve spesifik bağışıklık tepkisinin konakçı hücrelerini veya bileşenlerini hedef aldığı bilinmektedir. Hedefler, farklı bakteri türleri için ve hatta aynı türün farklı suşları arasında değişebilir, ancak genel olarak bağışıklık tepkisinin aktivasyonunu sınırlama veya engelleme işlevi görmekte olup; örnekler, tamamlayıcı aktivasyonunu bloke eden proteinleri içermektedir (örneğin, *Staphylococcus aureus* tarafından SCIN-B) (Kunin 2000). Örneğin *E. coli* bakterileri hemolizin, sitotoksik nekrotizan faktör, aerobaktin, biyofilm gibi çeşitli virülans faktörlerine ve İYE'lere neden olan *E. coli* patogenezinden sorumlu olan farklı tipte yapışma faktörlerine sahiptir (Otto *et al*. 2001). Hemolizin, delik oluşturma aktivitesi ve çeşitli insan hücrelerine sitotoksik olması nedeniyle eritrositlerin ozmotik lizizini indükleyebilen bir proteindir. *E. coli*, hücre dışı protein (ahemolizin), hücreye bağlı protein (β-hemolizin) ve nalidiksik aside dirençli bir mutant (γ-hemolizin) tarafından üretilen bir hemolizin dâhil olmak üzere çeşitli hemolizin türleri üretebilir (Mladin *et al*. 2009). Biyofilm, canlı doku ve kateterler gibi tıbbi cihazlar üzerinde oluşan karmaşık protein ve polisakkarit materyalleri ile çevrelenmiş bir bakteri mikrokolonisidir (Yamamoto *et al*. 1995).

Yapışma ve biyofilm oluşumu, bakterileri doku bağışıklığından koruyarak antibiyotik direncini ve bakterinin çoğalma ve konak dokuyu istila etme yeteneğini arttırmakta olup, bu durum da enfeksiyonun başarılı bir şekilde başlatılmasına yol açar. Adezyondan sorumlu genlere Aap ve Afa genleri denir. Flagella oluşumunu kodlayan Pap geni, bakterilerin doku hücrelerine hareket etmesine yardımcı olur ve billi oluşumuna yardımcı olan bakterileri kodlayan afa geni, idrar yolunun epitel hücrelerine bağlanmaya yardımcı olur (Le Bouguenec *et al*. 1992). Iha gibi diğer önemli genler, bakteri bağlanmasına

yardımcı olmak ve onu bağışıklık hücre saldırısından korumak için kapsül oluşumundan ve bakterilerin beslenmesi için demir alımından sorumlu olan Irp2'den sorumludur. *E. coli*'nin virülans faktörleri, büyük plazmitler üzerinde ve/veya kromozom üzerinde patojenite adaları (PAI'ler) olarak adlandırılan belirli bölgelerde bulunur. Üropatojenik bakterilerin virülans patojenik özelliklerini kodlayan bu virülans genlerini çoğaltan spesifik primerler kullanılarak virülans genlerinin aynı anda saptanmasına izin veren polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi geliştirilmiştir (Ewers *et al*. 2005).

Escherichia coli, mikrobiyal kontaminasyon olaylarını paylaşan ve idrar yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %90'ına neden olan en önemli patojenik bakterilerden biridir. *E. coli*, ekstraintestinal ve intestinal enfeksiyonlardan sorumlu olan ve aynı zamanda önemli bir virülans faktörü olan hücre dışı hemolizin üretebilir (Todar 2008).

Aktif hücre dışı a-hemolizin üretimi, bağlantılı dört gen hlyC, hlyA, hlyB ve hlyD'nin ürünlerini gerektirmektedir. A-Hemolizin, aktif olmayan bir polipeptit olarak sentezlenir ve HlyC proteini tarafından katalize edilen bir yağ asidi grubunun eklenmesiyle aktif formuna dönüştürülür. α-hemolisinin salgılanması, sinyal peptidinden bağımsızdır ve hlyB ve hlyD tarafından kodlanan spesifik bir membran translokatör sistemi tarafından aracılık edilir (Kalantar *et al*. 2011). Ojaimi and Al-Nashe (2009) tarafından *E. coli* bakterisinde virülans faktörü olarak bir hlyA geni hakkında yapılan bir çalışmaya göre bakteri suşlarının bu gene sahip olması, suşu daha patojenik hale getirmek için yeterlidir. PZR tahlillerinin, *E. coli*'nin başlıca virülans genlerinin tespit edilmesinde spesifik ve hassas olduğu kanıtlanmıştır, bu nedenle bu çalışmanın amacı, PZR kullanarak idrardan izole edilen hlyA gen *E. coli*'yi tespit etmektir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma için Haziran 2021 - Ekim 2021 ayları arasında Bağdat Hastanesi Al-Karkh ve İmam Al-Kazimin Tıp Şehri'ne başvuran farklı yaş gruplarındaki erkek ve kadın hastalardan, steril paketler kullanarak 100 idrar örneği alınmıştır. Tüm hastalara ait bilgiler, hastanın örneklemeden önce en az üç gün boyunca antibiyotik almadığından emin olarak, amaca yönelik hazırlanmış bir forma kaydedilmiştir. Numuneler daha sonra doğrudan laboratuvara gönderilmiştir.

3.1 İzolasyon ve Tanımlama Çalışmaları

Uzman doktorların nezaretinde numuneler alınmış ve bakteriler, kan agar ve MacConkey agar gibi ortamlarda kültürlendikten sonra laboratuvarda steril koşullarda toplanan numunelerden tecrit edilmiştir.

3.1.1 Besiyerleri

A. Kan agar

Üretici firmanın talimatına göre 40 gr kanlı agar bazının 1000 mL saf su içinde çözülmesiyle gerçekleştirilmiştir. Ortam 121°C'de 20 dakika boyunca otoklavlanmış 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra %5 taze insan kanı eklenmiştir. Bakteriyel izolatlar için bir zenginleştirme ortamı olarak ve RBC'leri hemoliz etme yeteneklerini belirlemek için kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

B. Beyin kalp enfüzyon (BHI) suyu

Üretici firmanın taimatına göre beyin-kalp infüzyon suyu 1 litre saf suda 37 gr çözülerek yapılmış olup 121ºC'de 20 dakika otoklavlanmıştır ve gerektiğinde bakteri reaktivasyonu için kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

C. Beyin kalp enfüzyon suyu – gliserol ortamı

Bu ortam 20 mL gliserol ile 80 mL beyin kalp infüzyon suyu karıştırılarak elde edilmiş olup 121ºC'de 20 dakika otoklavlanmıştır. Bakteri izolatlarının uzun süre stok olarak korunmasında kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

D. Pepton suyu

Bu ortam 1000 mL saf suda 8 gr pepton çözülerek hazırlanmış olup 121^0C'de 20 dakika otoklavlanmıştır. Bakteriyel aminoasit triptofanından indol elde edilecek şekilde ayrıştırma yeteneğini göstermek için kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

E. Mr-Vp

Bu ortam 1000 mL saf suda 17 gr ortamın çözülmesiyle hazırlanmış olup daha sonra otoklavda, 121^0C'de 20 dakika sterilize edilerek MR-VP ortamı hazırlanmış ve MacFaddin'in (2000) önerdiği şekilde glukozun kısmını ve tam hidrolizi saptamak için kullanılmıştır.

F. Simmons sitrat

Bu ortam 1000 mL saf suda 24,28 gr ortamın çözülmesiyle hazırlanmış olup daha sonra otoklavda 121ºC'de 20 dakika sterilize edilmiştir. Simmons Sitrat ortamı bakterilerin sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanma yeteneğini belirlemek için kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

G. Muller hinton

Muller Hinton agar ortamı üretici firmanın talimatına göre hazırlanmıştır (38 gr/L). Antimikrobiyal duyarlılık testi için kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

H. Eosin metilen mavi agar

Bu ortam 1000 mL saf su içinde 40 gr agarın çözülmesi ve ardından otoklavda 121°C'de 20 dakika sterilizasyon sayesinde hazırlanabilir. Bu tip ortam kullanılan seçici ve kademeli ortam UPEC ile aşılandığında yeşil metalik parlaklık olgusu üretmektedir (MacFaddin 2000).

I. MacConkey agar

Bu ortam 1000 mL saf su içinde 40 gr agarın çözülmesi ve ardından otoklavda 121°C'de 20 dakika sterilize edilmesi sayesinde hazırlanabilir. Bu tür ortamlar seçici gram-negatif ortamlar kullanmıştır (MacFaddin 2000).

J. Mannitol tuzlu agar

Mannitol tuzlu agar 1000 mL saf su içinde 111 gr agarın çözülmesi ve ardından otoklavda 121°C'de 20 dakika sterilize edilekerek hazırlanmıştır. (MacFaddin 2000).

3.1.2 Solüsyonlar ve miyarların hazırlanması

A. Gram boyası

Hazır gram boyası üretici şirketin talimatına uygun olarak bakterinin gram reaksiyonunun belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

- Kristal mor (ana boya)
- İyot çözeltisi/gram iyodu (kristal menekşeyi hücre duvarına sabitleyen mordan)
- Renk giderici (örneğin etanol)
- Safranin (ikincil boya)
- Su (tercihen bir fışkırtma şişesinde)

B. Katalaz miyarı

Miyar, 50 mililitre steril saf suya (%70) konsantrasyonda 21 mililitre hidrojen peroksit (H_2O_2) eklenerek ve nihai bir konsantrasyon (%3) elde etmek için hacim 100 mililitreye tamamlanarak hazırlanmış ve steril bir şişede saklanmıştır. Bu miyar katalaz enzimini üreten bakterileri hakkında çıkarımda bulunmak için kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

C. Oksidaz miyarı

Bu miyar 0,1 gr tetrametil-para fenilen diamin hidrojen klorürün 10 mL steril saf su içinde çözülmesiyle eş zamanlı olarak hazırlanmış olup opak bir şişede saklanmıştır. Bu miyar bakterilerin oksidaz enzimleri üretebilme kabiliyetini araştırmak için oksidaz testinde kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

D. Kovac miyarı

Kovac'ın reaktifi, p-dimetilaminobenzaldehit 10 gr, izoamil alkol 150 mL ve sonra yavaş yavaş 50 mL konsantre hidroklorik asit ilave edilir.

E. Metil Kırmızı miyarı

Miyar 0,1 gr metil kırmızı boya 300 mL %95 etil alkol içerisinde çözülerek ve saf su kullanımı sayesinde hacmi 500 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Şekerlerin tamamen çözündüğünü tespit etmek için kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

F. Voges-proskauer miyarı

Voges-proskauer miyarı iki tipten oluşmaktadır. Bunlar, Çizelge 3.1'de gösterilmektedir.

Vp1

Etanol % 96 100 mL

α-naftol % 5 5 gm

Vp2

Damıtılmış su 40 mL

KOH % 40

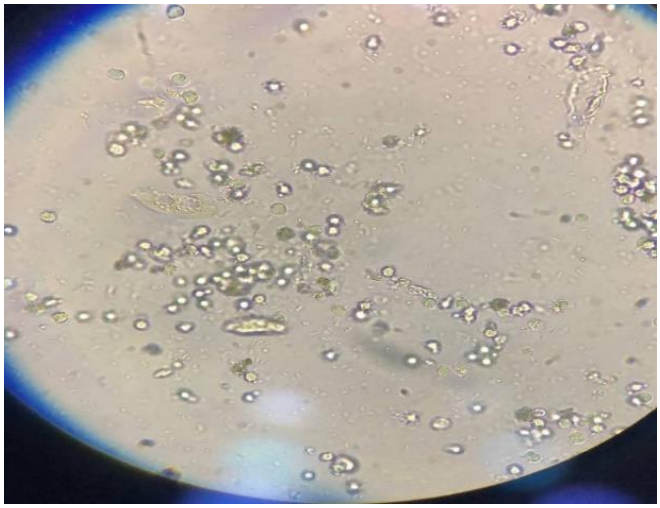
Hacim distile su ile 100 mL ye tamamlanır. İşlem bir su banyosu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

G. Etidyum bromür (%0,5)

Etidyum bromür (0,01 mg) 2 mL saf suda çözümesiyle hazırlanmış olup koyu renkli bir şişeye yerleştirilmiş ve 4^0C'de (Sambrook and Russel 2001) saklanmıştır. Spesifik DNA boyası olarak elektroforez için kullanılmıştır.

3.1.3 Mikroskobik inceleme

Yaklaşık 5 mL'lik her idrar numunesi steril koşullar altında toplanmış olup 3000 rpm hızında bir santrifüj içindeki steril tüplere yerleştirilmiştir. Süre 15 dakika olup daha sonra süzüntü ihmal edilmiştir. Tortu, Şekil 3.1'de gösterildiği gibi pürülan hücreler kan hücreleri vb. gibi iltihaplanma göstergelerini teşhis etmek ve incelemek için X40 gücündeki bir ışık mikroskobu altında incelenmiştir.



Şekil 3.1 Mikroskop yoluyla idrardaki WBC ve RBC

3.1.4 İzolasyon ve kültür bakteri

Semptomatik İYE'leri olan hastalardan yaklaşık 10 mL temiz yakalama orta akım idrar örnekleri toplanmış olup mevcut araştırmaya dahil edilmiş ve özel steril toplama tüplerinde saklanmıştır.

Numuneler kanlı agar MacConkey agar üzerinde kültürlenmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Başlangıçta izole bakteri kolonileri, koloni şekli, boyutu, rengi, koloni yüksekliği ve kanı analiz etme ve mukus üretme yeteneklerindeki fenotipik özelliklerine göre teşhis edilmiştir (Wanger *et al*. 2017). Daha sonra tek bir koloninin parçası olarak hazırlanan ince sürüntüler bir cam slayt üzerinde bir damla salin çözeltisine aktarılmıştır. Daha sonra steril bir taşıyıcı ile fırçalanmış olup ardından sıcak plaka üzerinde kurumaya bırakılmıştır ve ardından gram boyama ile boyanmış kurutulmuş ve daha sonra hücrelerin şekillerini gruplanmalarını ve gram boyama ile etkileşimlerini gözlemlemek için 100X yağlı lens kullanılarak ışık mikroskobunda incelenmiştir (Levinson 2004). Daha sonra orta (Beyin kalp enfüzyon Broth - Gliserol) için izole edilmiş bir koloni aktarılarak 37°C'de 24 – 48 saat inkübe edilmiş kullanılana kadar buzdolabında saklanmıştır.

3.1.5 Biyokimyasal tanımlama:

A. Katalaz testi

Kültür ortamında üreyen az miktarda üremiş bakteri steril tahta çubuklar kullanılarak 24 saat içerisinde temiz ve kuru bir cam lamın yüzeyine aktarılarak ve üzerine %3'lük (H_2O_2) damlası ilâve edilerek inceleme yapılmıştır. Gaz kabarcıklarının görünümü pozitif sonucu göstermektedir (MacFaddin 2000).

B. Oksidaz testi

Biyoanaliz miyar ile doyurulmuş bir filtre kağıdına steril tahta çubuklar kullanılarak bir miktar üremiş bakteri aktarılarak gerçekleştirilmiştir. On saniye sonra bakteri kolonilerinin mor renklenmesi saptamanın pozitif sonucunu göstermiştir (MacFaddin 2000).

C. İndol Üretim testi

Pepton suyu, genç test edilmiş bakterilerle aşılanmış olup 24–48 saat süreyle 37°C'de inkübe edilmiştir. Her tüpe birkaç damla Kovacs miyarı eklenmiş olup hafifçe çalkalanmıştır. Kırmızı bir halkanın oluşumu pozitif bir teste işaret etmiştir (MacFaddin 2000).

D. Metil kırmızı testi

Metil kırmızısı-Voges Proskauer suyu genç bakteri kültürü ile aşılanmış olup 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Beş damla metil kırmızısı solüsyonu eklenmiş sonuç karıştırıldıktan hemen sonra okunmuştur. Pozitif test parlak kırmızı renktedir (MacFaddin 2000).

E. Voges-proskauer testi

Metil kırmızısı-Voges-Proskauer suyu genç bir bakteri kültürü ile aşılanmış olup 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Her tüpe 1 mL'lik %40 KOH solüsyonu ve 3 mL'lik %5 α-naftol solüsyonu eklenmiştir. 15–20 dakika içinde pembe rengin gelişmesiyle pozitif reaksiyon ortaya konmuştur (MacFaddin 2000).

F. Simmons sitrat testi

Simmons sitrat slant taze bakteri kültürü ile aşılanmış olup 37˚C'de 48–72 saat inkübe edilmiştir. Mavi renk ve büyüme görünümünün çizgisi testin pozitif olduğunu göstermektedir (MacFaddin 2000).

3.2 Antibiyotik duyarlılık testleri

İzole edilmiş bakterilerin Çizelge 3.1'te gösterildiği gibi 8 tip antibiyotiğe karşı duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılmış steril bir sürüntü yeterli miktarda saf kültür kolonisini aktarmak ve mikroorganizmayı 12 x 75 mm boyutlarında şeffaf plastikten 3 mL'lik steril salin (sulu %0,45 ila %0,5 NaCl, pH 4,5 ila 7) test tüpü (polistren) içinde süspanse etmek için kullanılmıştır. Bulanıklık buna göre ayarlanmış olup DensiChek^{TM} adı verilen bir bulanıklık ölçer kullanılarak ölçülmüştür. Bulanıklıkların süspansiyonu McFarland Bulanıklık Aralığı (0,48–0,56) yardımıyla belirlenmiştir. Diskler emdirmenin oluşması için 3–5 dakika bekletilmiş ardından antibiyotik tabletleri forseps ile Muller-Hinton agar ortamı üzerine steril olarak dağıtılmış ve ortam 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Disklerin etrafındaki büyüme inhibisyon bölgesi ölçülmüş olup ölçümler Dünya Sağlık Örgütü (CLSI 2022) tarafından onaylanan standart tablolarla karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan antibiyotik disklerinin özellikleri ve yorumlama standartları

Antibiyotik	Konsantrasyon	Sembol	Üretici
Ampisilin	10/10 µg	A/S	Türkiye
Gentamicin	10 µg	GM	
Ciprofloksasin	10 µg	CIP	
Tetraciklin	30 µg	TE	
Seftazidim	30 µg	CAZ	
Trimetoprim	25 µg	SXT	
Nitrofurantoin	100 µg	F	
Penicillin	10 µg	P	

3.3 İzolatların VITEK 2 ile Tanımlanması

3.3.1 Vıtek 2 kompakt sistem tarifi

Tüm bakteriler VITEK 2 kompakt sistemi ile tanımlanmıştır. İzolatı tanımlamak için VITEK 2 kompakt cihazı kullanılmıştır. Otomatik ve yarı otomatik teknoloji hız doğruluk ve kolay kullanım ile nitelendirilen rutin bir teşhis laboratuvarında bakteriyel tanımlama duyarlılık ve test etmeye ilişkin seçimi teşkil etmektedir. VITEK 2 tanımlama sistemi VITEK kartları kullanılarak gerçekleştirilen bir dizi biyokimyasal teste bağlıdır. Her bir kart test bakterilerini tanımlamaya ilişkin biyokimyasal testleri ve metabolik reaksiyonları temsil eden 64 kuyucuk içermektedir. Bakteri süspansiyonu VITEK kartlarına yüklendikten sonra sonuçlar bilgisayar ortamına aktarılmış ve VITEK yazılımı ile kaydedilmiştir.



Şekil 3.2 Çalışmada kullanılan VITEK 2 Compact (bioMèrieux, France) tam otomatik identifikasyon ve duyarlılık sistemi

3.3.2 Örnek hazırlama

Yeterli sayıda saf kültür kolonisi, steril çubuk veya aplikatör çubuğu kullanılarak aktarılmış ve mikroorganizma, 12 x 75 mm şeffaf plastik (polistiren) test tüpünde 3 mL steril salin (sulu %0,45 ila %0,5 NaCl, pH 4,5 ila 7) içinde süspanse edilmiştir.

3.3.3 Bakteriyal süspansiyonun VITEK kartlarına yüklenmesi

VITEK kartları özel raflardaki bakteri süspansiyon tüplerine yerleştirilmiştir. VITEK sistem makinesi raflar üzerinden geçmiş ve izolatlar hakkında gerekli bilgileri girmek için rafın barkodu ve erişim numarası bilgisayar tarafından kaydedilmiştir (Ling *et al*. 2001).

3.3.4 Kart izolasyonu ve inkübasyonu

Raflar döner inkübatörüne aktarılmıştır. Transfer tüpleri kesilmiş kapatılmış ve yaklaşık 15 dakika boyunca 35,5+1°C'de inkübe edilmiştir. Kart reaksiyon için döner inkübatöründen alınarak optik sistem odasına konmuştur (Funke and Funke-Kissling 2004).

3.3.5 Optik sistem

Transmitans optik sistemleri görünür spektrumda farklı dalga boylarını kullanarak test reaksiyonlarının yorumlanmasına izin vermektedir. Her bir test reaksiyonu inkubasyon sırasında bulanıklık veya substrat metabolizmasının renkli ürününü ölçmek için her 15 dakikada bir kaydedilmiştir. Ayrıca mevcut olabilecek küçük kabarcıklar nedeniyle yanlış okumaları ortadan kaldırmak için özel bir algoritma kullanılmıştır (Guo *et al*. 2014).

3.3.6 Test reaksiyonu

5–6 saat boyunca yürütülen biyokimyasal testler ve metabolik reaksiyon esnasında tüm sonuçlar negatif sonuç için (-) ve pozitif sonuç için (+) ile işaretlenmiştir. Tüm bu sonuçlar bilgisayarda görünmüş olup yazılım analizinden sonra bunların baskısı alınmıştır (Guo *et al*. 2014).

3.4 Hemolisin Fenotip Tespit

Kanlı agar ortamının bakteri izolatları ile 37^0C'de 24 saat süreyle aşılanması suretiyle hemolisin üretimi gerçekleştirilmiştir. Kolonilerin etrafındaki berrak bölgenin görünümü tam hemoliz (ß-hemoliz) olarak adlandırılır. Kolonilerin çevresinde yeşilimsi bir bölgenin görünümü kısmi hemolize (α-hemoliz) atıfta bulunurken bölgede hiçbir değişiklik olmaması hemoliz (γ-hemoliz) olmadığı anlamına gelmektedir.

3.5 Primer Tasarımı

Bioneer tarafından sağlanan DNA primerleri Çizelge 3.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.2 PZR da kullanılan ileri ve geri primer dizileri (Johnson and Stell 2000)

Gen Adı		Primer Dizisi	Moleküler Ağırlık (bç)	GenBank Numarası
hly	F	AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT	1177 bç	M10133.1
	R	ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA		

3.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Malzemeleri

3.6.1 Genomik DNA Ekstraksiyonu ve Saflaştırma Yöntemi

Biyokimyasal testler ve VITEK-2 ile doğrulanmış (30) *E. coli* izolatı için yapılmıştır. Bu çalışmada Favor Prep gDNA Mini Kit kullanılmıştır. Protokolün ana adımları şunlardır:

1. Hazırlama

i. Bakteri hücreleri (1x109'a kadar) gecelik kültürden (besin sıvı besiyeri) 1,5 mL'lik bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
ii. 1 dakika boyunca 14.000 x gr'da santrifüjlenmiş, sonra süpernatant atılmıştır
iii. 200 µL FATG Tamponu eklenmiş, ardından hücre peleti bir vorteks yardımıyla yeniden süspanse edilmiştir
iv. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra sürece 2. adım Lysis ile devam edilmiştir.

2. Lysis (Parçalanma)

i. Numuneye 200 µL FABG tamponu eklenmiş olup, 5 saniye vorteksle karıştırılmıştır.
ii. Numune lizatının temizlendiğinden emin olmak için 70ºC'de en az (10) dakika inkübe edilmiştir.
iii. İnkübasyon sırasında, tüp her 3 dakikada bir ters çevrilmiştir.
iv. Gerekli elüsyon tamponunu (5. adım DNA elüsyonu için) 70ºC'lik bir benmaride önceden ısıtılmıştır.

3. DNA Bağlanması

i. Numune lizatına 200 µL mutlak etanol eklenmiş, hemen sonrasında 10 saniye vorteksle karıştırılmıştır.
ii. FABG kolonları toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
iii. Karışım (herhangi bir çözünmeyen kalıntı da dâhil olmak üzere) FABG sütununa aktarılmış, daha sonra 14,000xgr'da (1 dakika) santrifüjlenmiştir.
iv. Akış sıvısını içeren toplama tüpü atılmış, daha sonra FABG sütunu yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

4. Sütun Yıkama

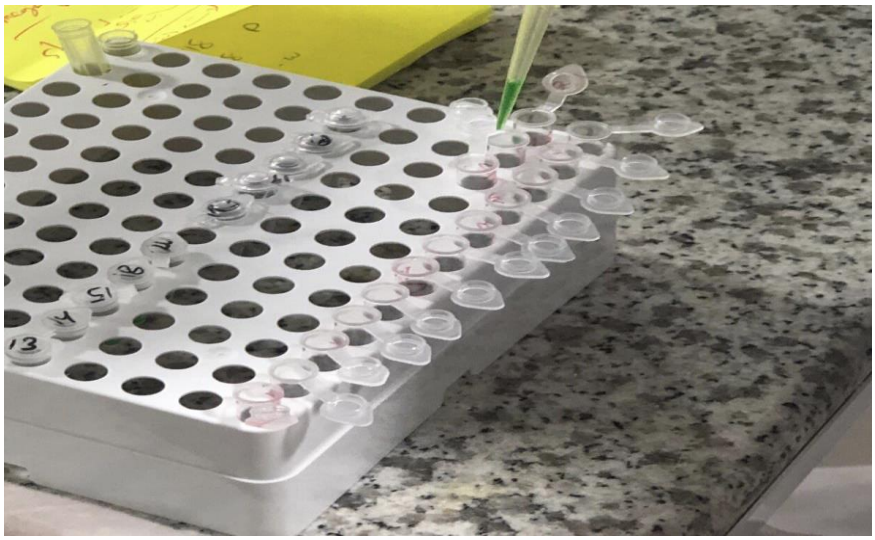
i. FABG sütununa 400 µL W1 tamponu eklenmiştir.
ii. Daha sonra (30 saniye boyunca 14.000xgr'de) santrifüjlenmiş, sonrasında akış sıvısı atılmıştır.
iii. FABG kolonları toplama tüpüne geri yerleştirilmiştir.
iv. Daha sonra (600 µL) yıkama tamponu (etanol eklenmiş olmalıdır) FABG sütununa eklenmiştir.
v. 30 saniye boyunca 14.000xgr'da santrifüjlenmiş olup, daha sonra akış sıvısı atılmıştır. FABG sütunu, toplama tüpüne geri yerleştirilmiştir.
vi. Sütun matrisini kurutmak için 3 dakika boyunca 14.000xgr'da tekrar santrifüjlenmiştir.

5. Elüsyon

i. Kurutulmuş FABG Sütunları yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
ii. 100 µL önceden ısıtılmış Elüsyon Tamponu eklenmiş olup, TE tamponu kolon matrisinin merkezine yerleştirilmiştir.
iii. Daha sonra, elüsyon tamponunun tamamen emilmesini sağlamak için FABG Sütunu 37ºC'de (10 dakika boyunca) inkübe edilmiştir. Daha sonra saflaştırılmış DNA'yı ayrıştırmak için (1 dakika boyunca 14.000xgr)'de santrifüjlenmiştir.
iv. Elüsyon Tamponunun (10 mM Tris-HCl, 25ºC'de pH 8,5) FABG sütun matrisinin merkezine eklendiğinden ve tamamen emildiğinden emin olunması gereklidir.

3.6.2 PZR karışımının hazırlanması

PZR reaksiyon karışımı; (bakteriyel olarak türetilmiş Taq DNA polimeraz, dNTP'ler, $MgCl_2$ ve DNA kalıplarının PZR ile verimli amplifikasyonu için optimal konsantrasyonda reaksiyon tamponu içeren) 12.5µL yeşil ana karışım, 5.5µL serbest nükleaz suyu, ileri ve geri primerin her birinden 1µL, 5µL kalıp DNA'dan oluşmaktadır. PZR tüpleri, gen için PZR amplifikasyon programları kullanılarak belirli bir programa göre amplifikasyon reaksiyonunu başlatmak için termal döngüleyiciye aktarılmıştır (Prabhu *et al*. 2010). Genin PZR reaksiyon karışımı (25µL), Çizelge 3.3'te açıklanan bir karışımdan oluşmaktadır.



Şekil 3.3 PZR reaksiyon karışımının karıştırılması

3.6.3 PZR termo döngü koşulları

PZR tüpleri PZR makinesine yerleştirilmiş olup doğru PZR döngü programı parametreleri koşulları Çizelge 3.3'teki gibi kurulmuştur.

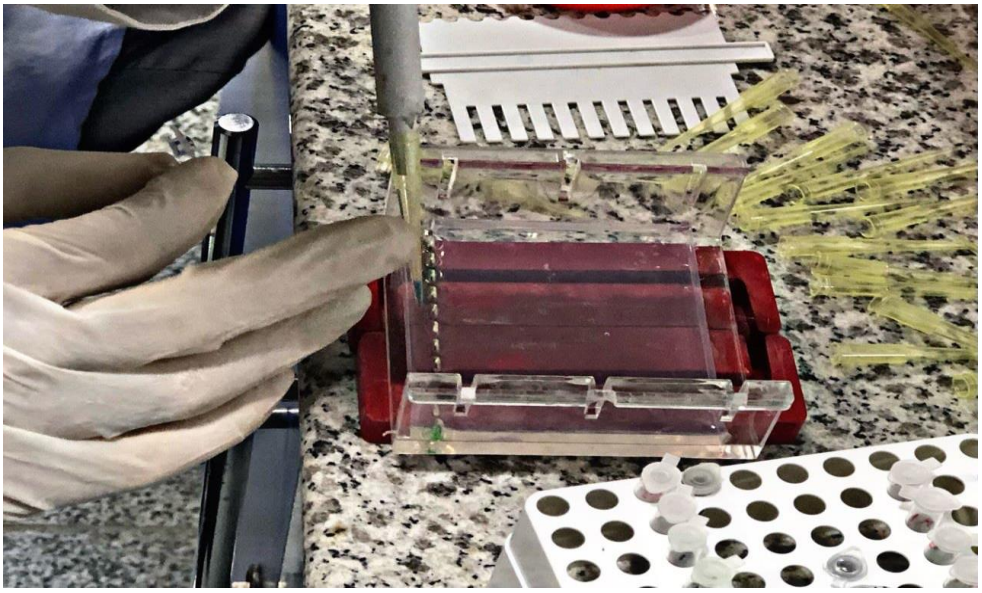
Çizelge 3.3 Hly genini amplifiye etmek için takip edilen PZR programı

Aşama		Adım	Sıcaklık (C^{o})	Süre	Döngü sayısı
Birinci		Aktivasyon	95	5 dakika	1
İkinci	I	Denatürasyon	95	1 dakika	35
	II	Bağlanma	54	30 saniye	
	III	Uzatma	72	90 saniye	
Üçüncü		Son Uzama	72	10 dakika	1

3.6.4 Agaroz jel ile dna ürününün analizi

Agaroz jel elektroforezi (Sambrook *et al*. 1989) tarafından tarif edildiği üzere yapılmıştır. PZR ürünleri %2 agaroz jel üzerine aşağıdaki şekilde aktarılmıştır:

Agaroz jeli, hazırlanan 50 mL TBE tamponu (1X) (pH 8) içinde 0,8 g agaroz tozunun çözülmesiyle hazırlanmıştır. Çözelti tüm kristaller agaroz içinde çözülene kadar 2 dakika mikrodalgada ısıtılmıştır. Karışım 58^{0}C'ye ulaşana kadar soğumaya bırakılmış üzerine 5 µL EtBr (etidyum bromür) karıştırılarak ilâve edilmiş olup sonrasında tarak jel içine akıtılmış olup yaklaşık 30 dakika süreyle katılaşması için soğumaya bırakılmıştır. Jel çökeltildikten sonra tarak tam olarak ayrılmış ve tarak daha sonra 1xTBE'den oluşan çalışma tamponu içeren elektroforez sistemine yerleştirilmiştir. Tampon Jeli yaklaşık 1–2 mm kaplayacak şekilde dökülmüş ve 5 µL'lik PZR ürünü her kuyucuğa pipetlenmiş olup PZR ürünlerinin boyutunu tahmin etmek için moleküler bir işaretleyici olarak kullanmak üzere ilk kuyucuğa 5 µL (100 bç merdiven) eklenmiştir (Şekil 3.4). Elektrik akımı bir buçuk saat (90 dakika) süreyle 110 Volt ve 93 mA2da ayarlanmıştır.



Şekil 3.4 Her kuyucuğa 5 µL PZR ürünü enjekte edin

3.7 İstatistiksel Analiz

Farklı faktörlerin çalışma parametreleri üzerindeki etkisini tespit etmek için İstatistiksel Analiz Sistemi (SAS) - 2018 programı ve bu çalışmada yüzde (0,05 ve 0,01 olasılık) arasında anlamlı bir karşılaştırma yapmak için Ki-kare testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

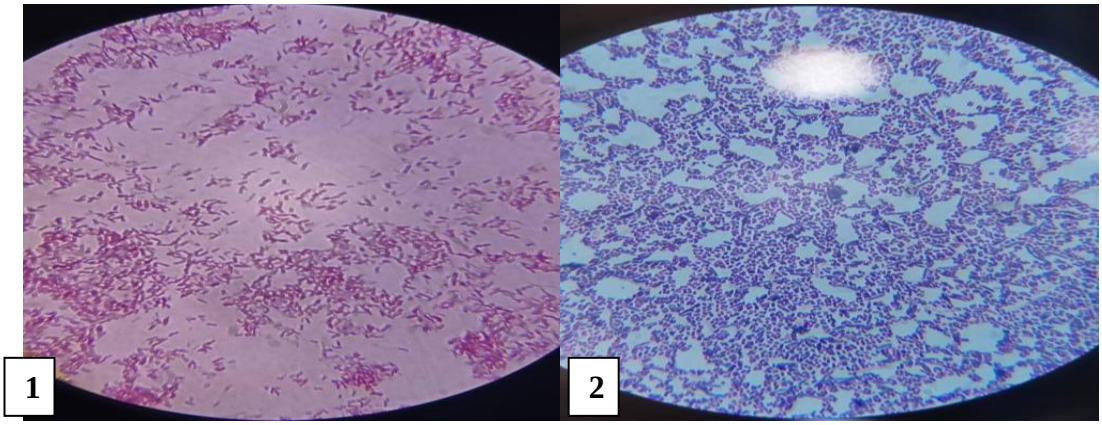
4.1 İzolasyon ve Tanımlama

Bu tez çalışmasında, Haziran-Ekim 2021 tarihleri arasında Bağdat'ta Yermuk Eğitim Hastanesi ve Al-Imamein Al-Kadhimaein Hastanesi'ne başvuran ve idrar yolu enfeksiyonu şüphesi bulunan (1-60 yaş arası) (100) hastadan idrar örneği alınmıştır. Numuneler, seçici ve ayırıcı bir besiyeri ortamında (kanlı agar ve MacConkey agar) kültürlenmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Başlangıç kültürünün sonuçları, 55 numunenin (%55) bakteri üremesi sağladığını, 45 numunede ise bakteri üremesinin görülmediğini ortaya koymuştur.

Büyümenin olmaması, hastalar tarafından sık antibiyotik kullanımı veya izolasyon için özel bir ortam ve koşullara ihtiyaç duydukları için aerobik bakterileri izole etmek amacıyla kullanılan aynı yöntemlerle izole edilmesi zor olan mantar virüsleri veya anaerobik bakteriler gibi diğer enfeksiyon nedenlerinin bir sonucu da dahil olmak üzere çeşitli nedenlerden kaynaklanmaktadır.

4.1.1 Bakteri teşhisi

İzolatlar başlangıçta hücrelerin boyaya boyutlara şekillere ve kümelere tepkisini gözlemlemek amacıyla gram boya marifetiyle mikroskobik tanıya dayanarak teşhis edilmiştir. İzole edilen hasta numunelerinin sonuçları boya açısından negatif izolat sayısının %89,1'lık bir yüzdeyle 49 olduğunu bu durumunda da onların safran kırmızı boya ile boyamaya duyarlılıklarını gösterirken gram boya için pozitif olan izolatların sayısının bunların kristal violat ile boyamaya duyarlılıklarını gösterecek şekilde 10,9'luk bir yüzdeyle 6 olduğunu göstermiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Gram boyama (1) Gram pozitif / (2) Gram negatif görüntüsü

Tüm izolatlar üzerinde biyokimyasal testler yapılmıştır. Tanı sonuçlarının yorumlanması (Brown and Smith 2017) ile yapılan karşılaştırmaya dayanmakta olup örnekler 2 Vitek kompakt sistemi yardımıyla doğrulanmıştır.

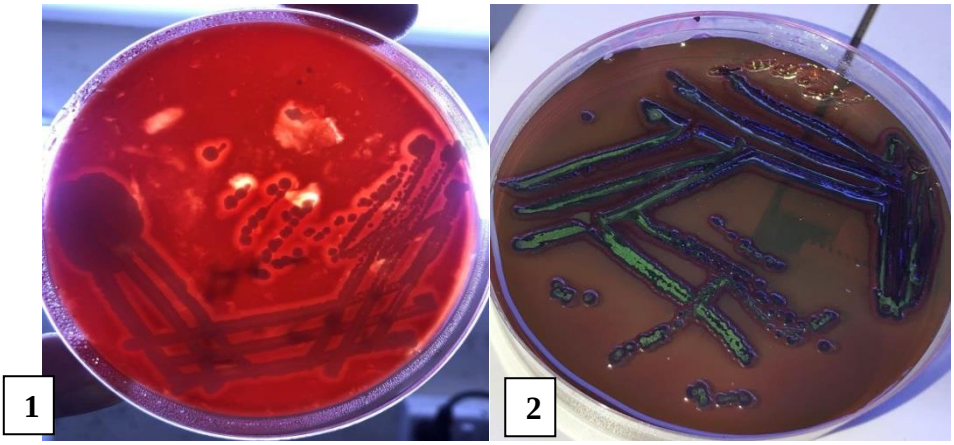
A. Gram negatif bakteri teşhisi

Gram negatif bakterileri teşhis etmek için Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi biyokimyasal testler yapılmıştır.

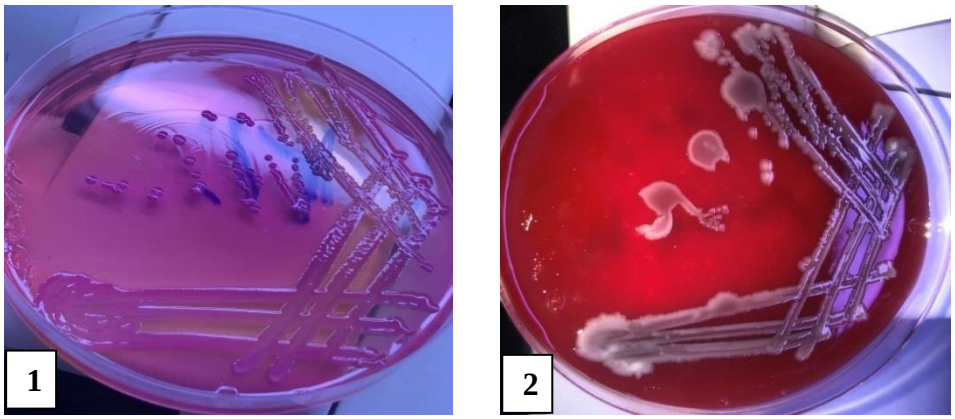
Çizelge 4.1 Gram negatif ve Pozitif bakteriler için biyokimyasal testler

Biyokimyasal testler / **Bakteri**	**Gram Boya**	**Katalaz testi**	**Oxidaz testi**	**IMVIC**			
				İndol	Metil Kırmızısı	Voges-Proskauer	Sitrat
E. coli	-	+	-	+	+	-	-
*Klebsiella pneumonia***e**	-	+	-	-	-	+	-
P. aeruginosa	-	+	+	-	-	-	-
Proteu mirabilis	-	+	-	-	+	-	-
Enterobacte cloacae	-	+	-	-	-	+	-
Staphylococcus aureus	+	+	-				

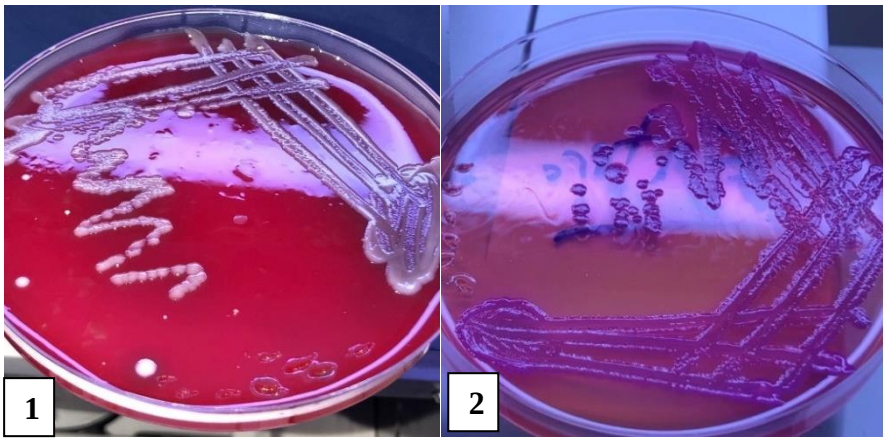
(+) Pozitif test (-) Negatif test



Şekil 4.2 *Escherichia coli* izolatının (A) EMB agar (B) Kan agar ortamındaki görüntüsü



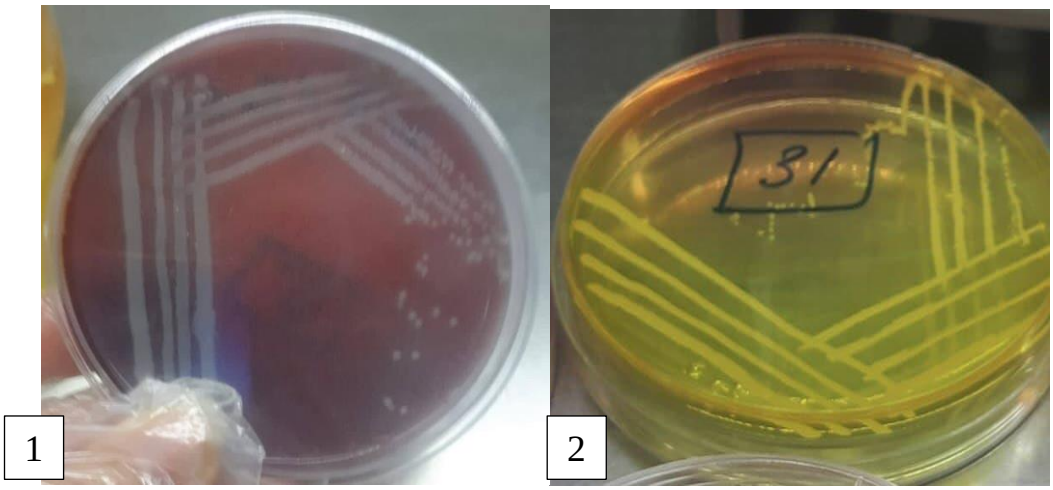
Şekil 4.3 *Klebsiella pnömonisine* izolatının (A) MacConkey agar (B) Kan agar ortamındaki görüntüsü



Şekil 4.4 *Enterobacter cloacae* izolatının (1) MacConkey agar (2) Kan agar ortamındaki görüntüsü

B. Gram pozitif bakteri teşhisi

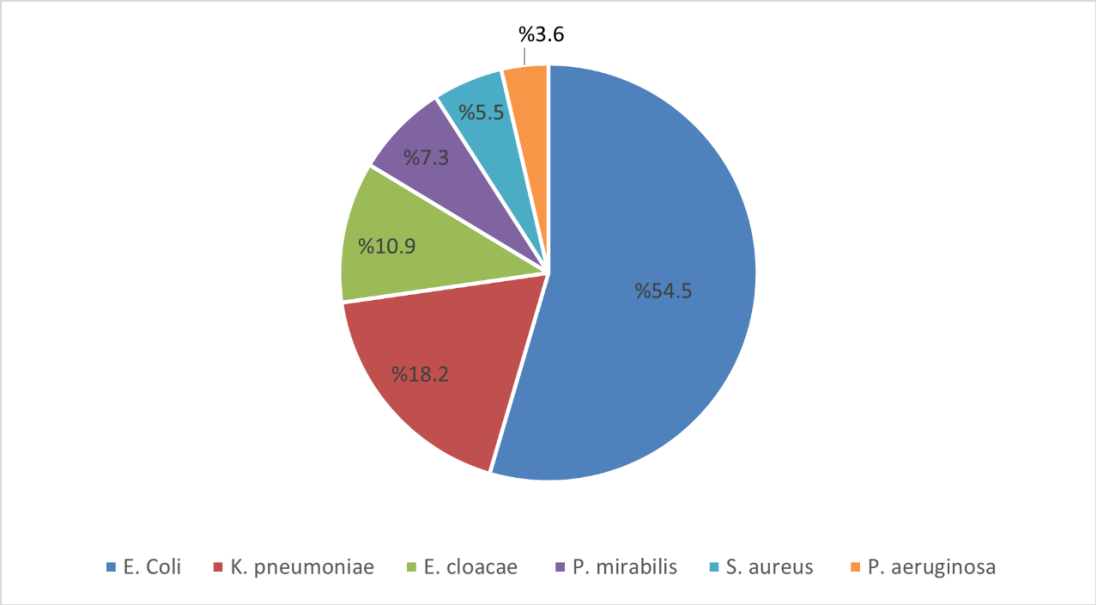
Gram pozitif bakterileri teşhis etmek için biyokimyasal testler yapılmıştır. Gram pozitif bakterilere gelince Staphylococcus sp cinsinin bakteri izolatları hücrelerinin şekli düzenliliği dizilimi ve gram boyası için Pozitifin üzüm salkımını hatırlattığı düzende katmanlaşmış küresel hücreler halinde bulunan gram boya ile renklenmeleri gözlemlenerek mikroskobik özelliklerine göre teşhis edilmiştir. Ek olarak bakteri izolatları Staphylococcus arasında ayrım yapmak için kültür testlerine tabi tutulmuştur. Açık renkli kremsi koloniler şeklinde ortaya çıkan MacConkey agarın ortamında inhibe edildiğinden kanlı agarın ortamında kolonilerinin özelliklerinin gözlemlenmesiyle görünüşte *Staphylococcus aureus* teşhisi konmuştur (Şekil 4.5). Orta ila büyük boy koloniler ortaya çıkmıştır; çapları 1–3 mm arasında değişmekte olup düzenli pürüzsüz dışbükey ve şeffaf bir hale ile çevrili parlak kenarları mevcuttur.



Şekil 4.5 *Staphylococcus aureus* izolatının (1) Manitol tuz agar (2) Kan agar ortamındaki görüntüsü

4.2 İzole Bakteri Türlerin Sayıları ve Yüzdeleri

Altı bakteriyal tür Şekil 4.6'da gösterildiği biçimde 55 izolat oranında idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilmiştir.



Şekil 4.6 Bakteri yüzdesi

Yukarıda yer alan şekilden yola çıkarak gram-negatif bakteriler %89,1 oranında izole edildikleri için idrar yolu enfeksiyonuna neden olmada büyük bir role sahip olup gram-pozitif bakterilerin yüzdesi ise %10,9'dur. *E. coli* mevcut çalışma sırasında izole edilen en yaygın bakteri türü olup %54,5 oranında izole edildiği için idrar yolu enfeksiyonuna neden olmaktadır.

K. pneumoniae bakterisi ise izolasyon yüzdesinde %18,2 ile ikinci sırada yer alırken; bu bakterinin idrar yolu enfeksiyonuna neden olma özelliği bağırsakta doğal olarak bulunan ve idrar yolu enfeksiyonu nedeniyle bulaşabilen bakterilerden biri olmasından ve onu çevreleyen ve onu olumsuz koşullardan koruyan ve onu rahatsız etmeye yardımcı olan bir kapsüle sahip olmasından ve vücudun fagositoz gibi bağışıklık savunmalarına direnmesinin yanı sıra yapışmasına yardımcı olan ve yaralanmaya neden olma şansını artıran kirpiklere sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Jehad *et al*. 2000).

Staph aureus yüzde 10,9 ile izole edilmiştir. *Proteus mirabilis* %7,3 izole edilmiştir. *Enterobacter cloacae* için ise %5,5 oranında izole edilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine gelince izolasyon yüzdesi %3,6'dır.

4.3 İYE'lerin Cinsiyete Göre Dağılımı

Bu çalışmada, Çizelge 4.2'te gösterildiği gibi, diğer bakteriyel patojenlerin UPEC'sinin daha yüksek olan hasta sayısının kadınlarda 21, erkeklerde 9, *Klebsiella pneumonia'nın* kadınlarda 7 ve erkeklerde 3, *Staphylococcus aureus'nin* kadınlarda 4 ve erkeklerde 2 olduğunu, *Proteus mirabilis*'de 2 kadın ve 2 erkek, *Enterobacter cloacae* 2 kadın ve 1 erkek, *Pseudomonas aeruginosa* 1 kadın ve 1 erkek olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.2 Erkek ve kadınlarda Üropatojenik *E. Coli* ve diğer bakteriyal patojenlerin sıklığı

Bakteri türleri	**Cinsiyet**		**Yüzde**	**P-value**
	Kadın	Erkek		
Escherichia coli	21 (56,77%)	9 (50,00%)	54,5%	0,0001
Klebsiella pneumonia	7 (18,92%)	3 (16,67%)	18,2%	
Staphylococcus aureus	4 (10,81%)	2 (11,11%)	10,9%	
Proteus mirabilis	2 (5,41%)	2 (11,11%)	7,3%	
Enterobacter cloacae	2 (5,41%)	1 (5,56%)	5,5%	
Pseudomonas aeruginosa	2 (5,41%)	1 (5,56%)	3,6%	
	37 (67,27%)	18 (32,73%)	100%	
Toplam	55(100%)			
Chi-Square (χ2	14,066 **		13,792 **	

** (P≤0,01

4.4 Yaş ile İYE İlişkisi

İYE'nin yaşa etkisi ile ilgili olarak hastalığın yaş gruplarına göre dağılımına ilişkin Çizelge 4.3'te sıralanan sonuçlar hastalığa yakalanabilecek en yüksek grubun (21–30) yaş grubu olduğunu göstermiştir. Bu grupta enfekte olan kişi sayısı %25,4 oranıyla 55 hastadan 14'ü iken hastalığa yakalanacak en düşük yaş grubu enfekte kişi sayısının 55 hastada 4 ve yüzdesinin %7,3 olduğu (41–50) yaş grubudur.

Çizelge 4.3 Hasta yaş grubuna göre İYE ile enfeksiyonun dağılımı ve yüzdeleri

Yaş	**izole**		**Yaralanmalar**		**P-value**
	N	%	N	%	
1-10	25	25%	13	23.6%	0,0081
11-20	20	20%	10	18.2%	
21-30	20	20%	14	25,4%	
31-40	15	15%	9	16,4%	
41-50	10	10%	4	7,3%	
15-60	10	10%	5	9,1%	
Toplam	100	45	55	100%	
Chi-Square (χ^2)	---	---	---	7,086 **	

** ($P \leq 0,01$)

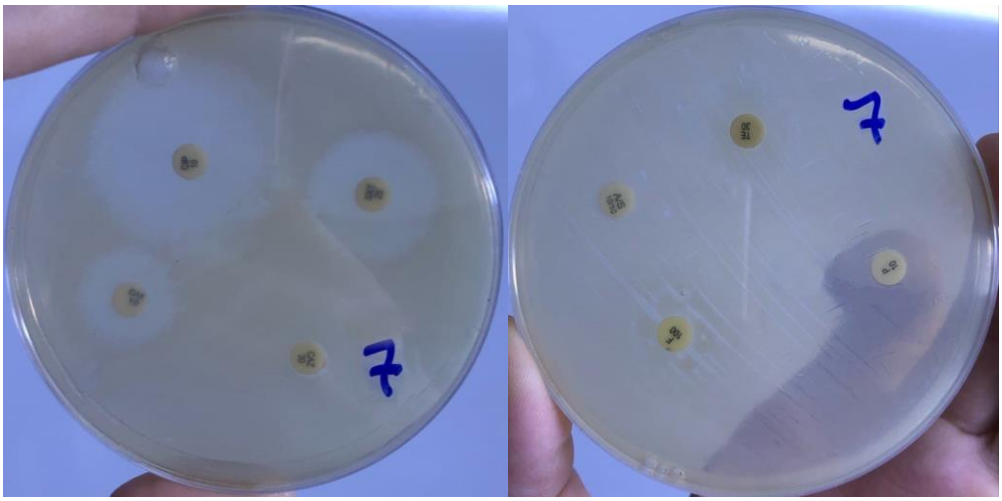
4.5 Antibiyotik Hassasiyet Testi

Çalışma kapsamındaki izolatların arasında dağılan 8 adet antibiyotik için test edilmiştir. Duyarlılık (CLSI 2022)'de belirtilenlere kıyasla çalışmada kullanılan antibiyotikleri toplamak amacıyla inhibisyon bölgesinin çapının ölçülmesine dayanmaktadır. Tüm bakteri izolatları için 8 antibiyotiğe ilişkin duyarlılık testi yapılmış olup sonuçlar Çizelge'de 4.4 ve Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4 Bakteriler izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç duyarlılık ve orta duyarlılık yüzdeleri

Antibiotics	*E. coli*			*Klebsiella pneumonia*			*S. aureus*			*Proteus mirabilis*			*Enterobacter clocae*			*P. aeruginosa*			Toplam		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Gentamycin	24	0	6	6	0	4	4	0	2	3	0	1	2	0	1	0	0	3	39	0	16
Nitrofurantoin	27	0	3	1	2	7	5	0	1	4	0	0	2	0	1	0	0	3	39	2	14
Ceftazidime	6	3	21	2	2	6	4	0	2	2	0	2	1	0	2	0	0	3	15	5	35
Trimethoprim	12	0	18	5	0	5	1	0	5	3	0	1	1	0	2	0	0	3	22	0	33
Ciprofloxacin	18	0	12	6	0	4	5	0	1	3	0	1	2	0	1	0	0	3	34	0	21
Ampicillin	9	12	9	1	0	9	0	0	6	4	0	0	0	0	3	0	0	3	33	12	10
Tetracycline	9	5	18	4	0	6	3	0	3	1	0	3	1	0	2	0	0	3	18	3	34
Penicillin	0	0	30	10	0	0	0	0	6	4	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0	55
P-value	0,0001 **			0,0001 **			0,0001 **			0,0001 **			0,0001 **			NS			0,0001 **		
	0,0001 **			0,0084 **			NS			NS			NS			NS			0,0001 **		
	0,0001 **			0,0001 **			0,0001 **			0,0001 **			0,0001 **			0,0001 **			0,0001 **		

(GM) Gentamicin / (F) Nitrofurantoin / (CAZ) Ceftazidime / (SXT) Trimethoprim-Sulfamethoxazole / (CIP) Ciprofloxacin / (A/S) Ampicillin / (TE) Tetracycline / (P) Pencillin.



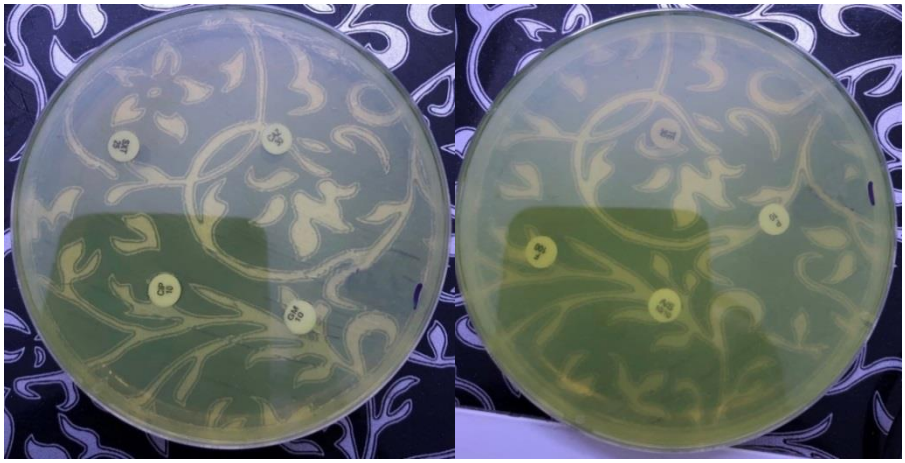
Şekil 4.7 *E. Coli* için antibiyotik inhibisyon çapları



Şekil 4.8 *K. pneumoniae* için antibiyotik inhibisyon çapları



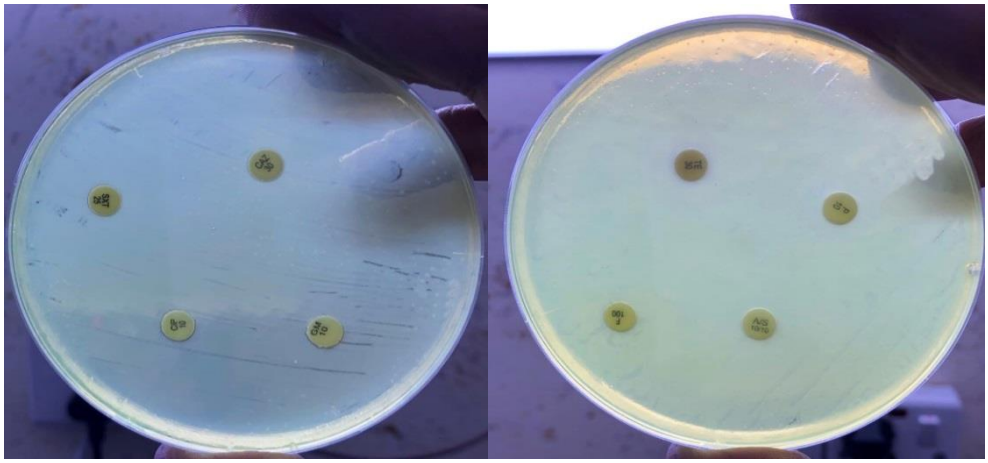
Şekil 4.9 *Staphylococcus aureus* için antibiyotik inhibisyon çapları



Şekil 4.10 *Proteus mirabilis* için antibiyotik inhibisyon çapları



Şekil 4.11 *Enterobacter cloacae* için antibiyotik inhibisyon çapları



Şekil 4.12 *P. aeruginosa* için antibiyotik inhibisyon çapları

4.6 Vıtek® 2 Sistem ile Onaylayıcı Tanımlama

Önceki bulgulara göre VITEK® 2 Sistem ile Bakteri Tanımlama %87'den %99'a kadar düzenlenmiş yüksek doğruluk sağlamaktadır. Sonuç 55 bireyde 6 tür tarafından örneklenen bakteriyel enfeksiyon olduğunu ortaya çıkarmıştır (Ek. 3). İlgi çekici bir şekilde *E. coli* İYE'de baskın türdür (30 izolat: %54,5). Sonuçlar Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5 Vitek 2 sistemiyle bu çalışmada tanımlanan – izole bakteri türleri

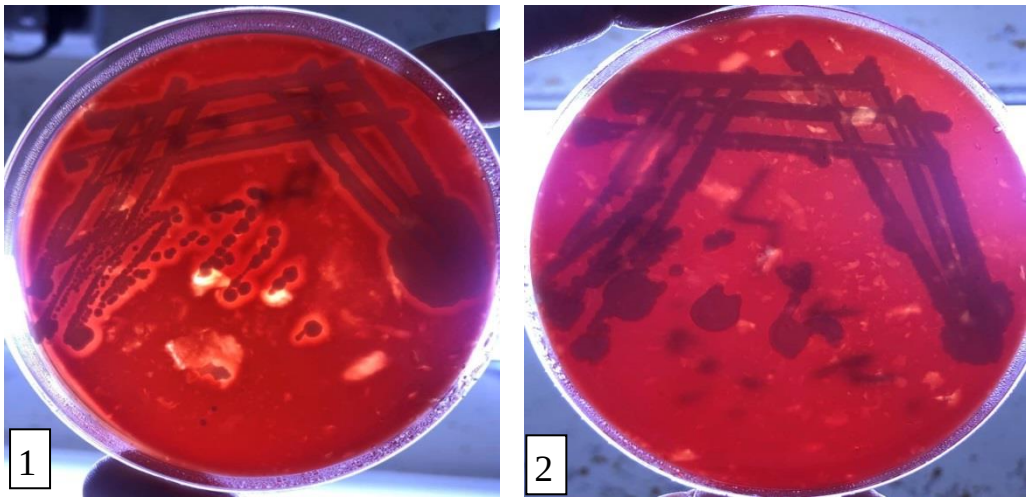
Bakteri türleri	**İzolat Sayısı**	**Yüzde**	**P-value**
Escherichia coli	30	54,5%	
Klebsiella pneumonia	10	18,2%	
Staphylococcus aureus	6	10,9%	
Proteus mirabilis	4	7,3%	0,0001
Enterobacter cloacae	3	5,5%	
Pseudomonas aeruginosa	2	3,6%	
Toplam	55	100%	
Chi-Square (χ^2)	---	13,792 **	

** (P≤0,01)

4.7 *E. Coli* İzolatları Üreten Hly'nın Belirlenmesi

E. coli izolatlarının hemolisin enzimi üretme yetenekleri insan kanı içeren temel kan ortamı üzerinde büyütülerek test edilmiştir. İdrar kaynaklı toplam 30 *E. coli* izolatından

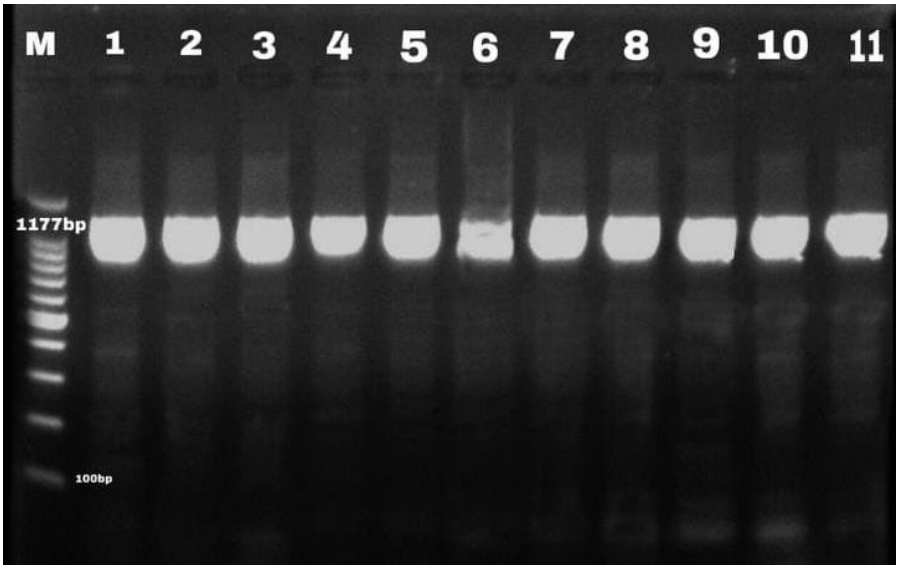
14’ünün (%46,66) kanlı agar ortamında hemolisin enzimi üretebildiği bu izolatların kanlı agarda koloni etrafında şeffaf bir hale görünümü ile hemoliz sergilediği saptanmıştır (Şekil 4.13).



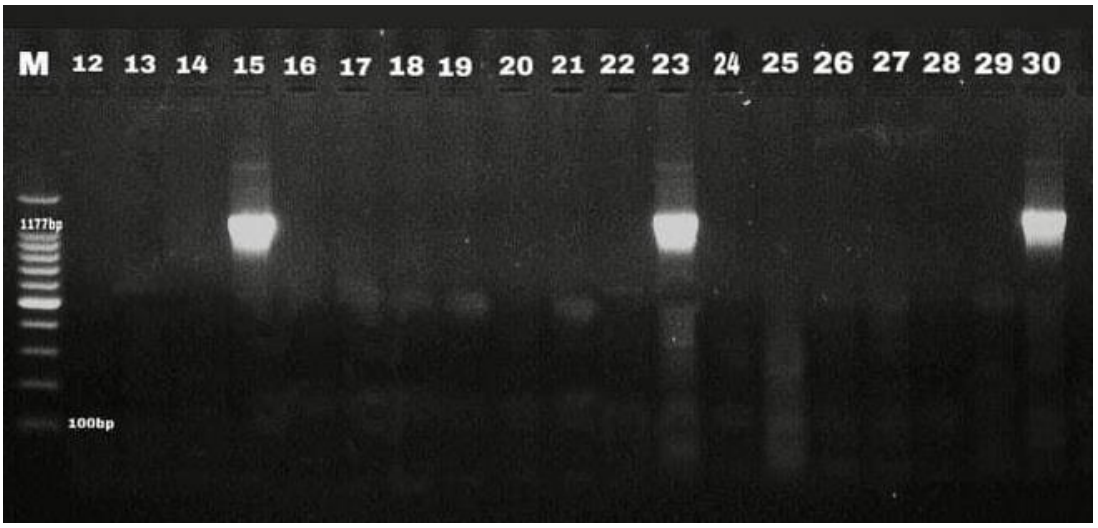
Şekil 4.13 (1) Hemolisin için *E. coli* üreticisi (2) Hemolisin için *E. coli* üretmeyicisi

4.8 *E. Coli* İzolatları Üreten Hly’nın Genotipik Olarak Belirlenmesi

Escherichia coli tarafından üretilen hemolisin enzimi polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) sayesinde bu gene sahip izolatların saptanması amacıyla hly genine özgü bir primer kullanılarak moleküler olarak araştırılmıştır. Daha sonra agaroz jeli UV ışınları altında incelenmiştir. Hemolitik ve hemolitik olmayan *E. coli* bakterilerinin tüm izolatları hemolisin enziminin üretimini kodlayan hly genini araştırmak için tespit edilmiş olup hly geninin agaroz jel üzerinde migrasyon sonrası amplifikasyon ürünleri (%1) etidyum bromür ile boyanmış ve ultraviyole ışığına maruz bırakılmış olması *E. coli*’nin (14) izolatının hly genine %46,66 oranına sahip olduğunu ve diürezden izole edilen *E. coli* için hly geninin boyutunun Şekil 4.14 ve 4.15’da gösterildiği gibi 1177 pb olduğunu göstermiştir. Sonuçlar fenotipik tanı ile aynıdır.



Şekil 4.14 E.coli izolatlarında hly geninin (1177) PZR ürününün jel elektroforezi a, M= DNA moleküler boyut belirteçleri (100 - 2000 bç), 1 ila 11 izolat sayısını temsil eder



Şekil 4.15 E.coli izolatlarında hly geninin (1177) PZR ürününün jel elektroforezi a, M= DNA moleküler boyut belirteçleri (100 - 2000 bç), 12 ila 30 izolat sayısını temsil eder

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, Haziran-Ekim 2021 tarihleri arasında Bağdat'ta Yermuk Eğitim Hastanesi ve Al-Imamein Al-Kadhimaein Hastanesi'ne başvuran ve idrar yolu enfeksiyonu şüphesi bulunan (1-60 yaş arası) (100) hastadan idrar örneği alınmıştır. Sonuçlar, hem gram pozitif hem de gram negatifin farklı yüzdelerde idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabileceğini göstermiştir. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi erkekler ve kadınlar arasında farklılıklar söz konusudur. Bakteri sayısı ≥105 bakteri hücresi/mL olan örnekler, önemli İYE olarak kabul edilmiş olup direnç profili testine göre uygun antibiyotiklerle tedavi edilmesi gereklidir. Çalışmamızda tanımlanan üropatojenler, bölge içinde veya uluslararası olarak farklı ülkelerde yapılan diğer birçok çalışmanınkine benzerlik göstermektedir (Astal and Sharif 2002), ancak farklı sonuçlar bildirilmiştir. Üropatojenlerin türü ve dağılımındaki benzerlikler ve farklılıklar, farklı çevresel koşullardan ve konakçı faktörlerden ve her ülkedeki sağlık ve eğitim programcıları, sosyoekonomik standartlar ve hijyen uygulamaları gibi uygulamalardan kaynaklanabilir.

Çalışmamızda gram pozitif kok prevalansı yüksek olmamıştır ve bu sonuç, araştırmacılar Kothari ve Sagar (2008) ve Astal ve Sharif (2002) tarafından yürütülen diğer çalışmalara benzerlik göstermektedir. İdrarda izole edilen gram pozitif dışında, diğer izolatlar kalın bağırsağın sakinleridir. Enterobacteriaceae familyası, bu çalışmada idrar yolu enfeksiyonu için izole edilen en yaygın mikroorganizma olmuş ve toplam izole edilen bakterilerin %89,1'ini oluşturmuş olup bunlar arasında en baskın bakteri *E. coli* olmuştur. Mevcut bulgu ile uyumlu daha önce yapılan çalışmalar mevcuttur (Zhanel *et al*. 2005, Christensen *et al*. 2007).

İdrar yolu enfeksiyonları dünya çapında yaygın görülen durumlar olup antimikrobiyal direnç modeli farklı bölgelerde değişiklik göstermektedir. Bu çalışmada, İYE'lerle cinsiyet, izole bakteriyel ajanlar ve antibiyotik direnci arasındaki ilişkileri tanımlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, İYE'ler yılda yedi milyon doktor ziyareti ve 100.000 hastaneye yatıştan sorumludur ve bu da onları ayakta tedavi ortamlarında en yaygın bakteriyel enfeksiyonlar haline getirmektedir (Foxman 2002). Yaklaşık her 3 kadından 1'i 24 yaşından önce İYE için antimikrobiyal tedaviye ihtiyaç duymakta olup kadınların

%40 ila %50'si yaşamları boyunca İYE geçirmektedir (Foxman 2003). İYE'lerin tahmini yıllık maliyeti, değerlendirme ve tedavi için 1,6 milyar dolardır. Antimikrobiyal tedavideki gelişmelere rağmen, İYE'ler önemli bir morbidite nedeni olmaya devam etmektedir (Foxman 2002).

İdrar yolu enfeksiyonu ile enfekte olmuş kadınlar (Çizelge 4.4) (%67,3) ve erkekler (%32,7) ile ilgili mevcut çalışmanın sonuçlarıdır. Çalışmamızdaki hastaların cinsiyet dağılımı, İYE'li kadınların istatistiksel olarak baskın olduğunu gösteren (pozitif kültürlerin %67,3'ü) diğer rapor edilen çalışmalarınkilerle uyumludur. Bu sonuç, araştırmacı Abu Shaqra (2000) tarafından bildirilenlere benzerlik göstermektedir, ve idrar yolu enfeksiyonlu kadınların enfeksiyon yüzdesi %69'a ulaşan Priyadharsini *et al*. (2014) tarafından elde edilen sonuçlara yaklaşmıştır ve Batı Hindistan'da Patel *et al*. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, idrar yolu enfeksiyonu olan erkeklerden ve kadınlardan toplanan 1401 idrar örneği incelenmiş olup, her biri için sırasıyla %45,29 ve %46,32 oranlarına ulaşılmıştır. Etiyopya'da Bitew *et al*. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, kadınlarda idrar yolu enfeksiyonu insidansı %81,2 iken toplam enfeksiyon oranı %36 olmuştuştur (Bitew *et al*. 2017). Kadınlar arasında yüksek enfeksiyon insidansı, anatomi ve mikrofloradaki erkek ve dişi genitoüriner sistemleri arasındaki farklılıklarla ilgilidir (Strom *et al*. 1987).

Kadın hastalarda idrar yolu kısalığı ve vajina açıklığının anal bölgeye yakın olması (Sibi *et al*. 2011) nedeniyle kadınlarda %67,3 ile İYE'ye neden olan bakteri yüksek oranda görülmekte iken erkeklerde bu oran %32,7 olmuştur.

E. coli, Ceftazidim için %70 ve Tetrasiklin, Trimetoprim-Sülfametoksazolün her biri için %60 oranında yüksek direnç göstermiştir. Ampisilin için %40 ve Seftazidim ve Tetrasiklinin her biri için %10 oranında orta düzeyde duyarlılık ve Nitrofurantoin için %90 ve Gentamisin için %80 oranlarında yüksek duyarlılık göstermiştir.

Klebsiella pneumoniae, Ampisiline % 90 ve Nitrofurantoine % 70 oranınlarında yüksek direnç ve Nitrofurantoin ve Ceftazidime'in her biri için % 20 oranında orta düzeyde

duyarlılık ve Gentamicin ve Ciprofloxacin'in her biri için % 60 oranında duyarlılık göstermiştir.

Staphylococcus aureus, Ampisilin için %100 mutlak direnç ve Trimetoprim-Sülfametoksazol için % 83,3 oranında yüksek direnç ve Nitrofurantoin Ceftazidime ve Ciprofloxacin'in her biri için % 83,3 oranında duyarlılık göstermiştir.

Proteus mirabilis, Ampisilin için %100 mutlak direnç ve Tetracycline için %75 oranında direnç ve Nitrofurantoin için %100 mutlak duyarlılık ve Gentamicin için %75 oranında duyarlılık göstermiştir.

Enterobacter cloacae, Ampisilin için %100 mutlak direnç ve Ceftazidime Tetracycline ve Ceftazidimee'in her biri için % 66,7 oranında direnç ve Nitrofurantoin Gentamicin ve Ciprofloxacin'in her biri için % 66,7 oranında duyarlılık göstermiştir.

P. aeruginosa ise ise bu çalışmada kullanılan tüm antibiyotiklere mutlak direnç göstermiştir. Ayırca tüm bakteriler Pencillin'e karşı mutlak direnç göstermiştir.

İYE'lerin antibiyotiklere karşı yüksek direnci, özellikle reçetesiz satılmasına izin verilen yerlerde bu antibiyotiklerin aşırı kullanımından kaynaklanmaktadır. Bu direnç, bakteri hücresinin kromozom ve plazmitindeki mutasyonlar nedeniyle oluşmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yayınlanana bir raporda, satılan antibiyotiklerin %80'inden fazlasının hayvanları tedavi etmek için kullanıldığı ve bununda başka bir direnç kaynağı olduğu gösterilmiş olup, bu antibiyotiklerin sığırlarda antibiyotiklerin düzensiz kullanımı yoluyla günlük olarak gıda şeklinde insanlar tarafından küçük dozlarda alınması bakteriyel direncin artmasına yardımcı olmaktadır (Ventola 2015). Ayrıca antibiyotiğe dirençli bakterilerin yayılmasının coğrafi ve bölgesel konuma göre değişiklik göstermektedir (Karlowsky *et al*. 2002).

Nitrofurantoin, bakteri türleri üzerindeki etkisinden dolayı en yaygın antibiyotiklerden biridir. İyi tolere edilir ve gram pozitif ve gram negatif idrar yolu enfeksiyonlarına neden

olan patojenleri etkileyebilir. Dokulara ve seruma yayılma yeteneği düşük seviyelerde olduğu için bu antibiyotik hamileler tarafından kullanılabilir. Bunun yanı sıra, sistitli kişilerin tedavisi için uygun olup üst idrar yolunu tedavi edemez (Cortes-Penfield *et al*. 2017).

Ciprofloxacin güvenli ve etkili antibiyotiklerden biri olarak kabul edilmekte olup yetişkinlerde akut veya komplike idrar yolu enfeksiyonlarını tedavi etmek için bir alternatif olarak kullanılmaktadır (Gutiérrez *et al*. 2015).

E. coli izolatlarının hemolizin enzimi üretme yetenekleri, insan kanı içeren temel kan besiyeri üzerinde büyütülerek test edilmiş olup, idrar kaynaklı toplam 30 *E. coli* izolatından 14'ünün (%46,66) kanlı agar besiyerinde hemolizin enzimi üretebildiği ve bu izolatların kanlı agarda koloni etrafında şeffaf bir halo görünümü ile hemoliz gösterdiği saptanmıştır. Hly A enzimi ökaryotik hücre zarlarının temel bileşenlerinden birisi olan UPEC suşları genellikle konak hücrelerde trans membranöz gözeneklerin oluşumu nedeniyle sitotoksik olan hemolizinler üretirler. Bu strateji, bakteriyel büyüme için demir ve diğer besinleri elde etmek amacıyla, bu maddeleri serbest bırakmak için konakçı hücrelerin lizizlerini içerebilir. *E. coli*'nin alfa-hemolizinleri de lenfositleri parçaladığından, hemolizinlerin aktivitesi kırmızı hücrelerle sınırlı olmamakla beraber beta-hemolizinler, nötrofillerin fagositozunu ve kemotaksisini inhibe eder. Escherichia coli hemolizin, monositler ve makrofajlar için potansiyel olarak sitotoksik olup, onları otolize ve ölüme yol açmaktadır (Abe *et al*. 2008).

Bu sonuçlar, *E. coli* hemolitik bakteri oranının (%50) olduğunu ifade eden AL-Shuwaikh *et al*. (2015) ile tutarlı olup, idrardan izole edilen hemolitik *E. coli* bakterilerinin oranının (%38,5) olduğunu ifade eden Nanakali and Ahmed (2015) tarafından elde edilen sonuçlarla tutarlı değildir.

Kausar *et al*. (2009), izolatların %41'inde *E. coli* suşları arasında hemolizin üretiminin pozitif olduğunu bildirmiş olup, Jürgens *et al*. (2002), hemolisini, patojenik bakteriler tarafından üretilen, genellikle büyümenin log fazı sırasında hücre dışı ortama salınan hücreye zarar veren protein toksinleri olarak adlandırmıştır. Örneğin, birçok *E. coli* suşu,

kanlı agardaki bakteri kolonilerini çevreleyen beta hemoliz bölgesinden sorumlu bir hemolisini üretmektedir.

UPEC'de virülans geninin özelleşmiş (Primerleri) olarak işlev gören sınırlı sayıda nükleotid içeren (DNA) parçaları kullanılarak hly genini araştırmak için polimeraz zincir reaksiyonu tekniği kullanılmıştır.

Patojenik *E. coli* bakterisi tarafından üretilen alfa-hemolisin enzimi konakçının kırmızı kan hücrelerini parçalayan bir lipoprotein olan alfa-hemolisin genleri adı verilen genler tarafından kodlanmaktadır (Wiles and Mulvey 2013).

Bakteriler tarafından hemolisin salgılanması konakçı epitel hücrelerinin programlanmış ölümünü arttırmakta olup bu bakterilerin alttaki dokulara ulaşma kabiliyetini ve enfeksiyon alanı içinde patojenik *E. coli* bakterilerinin kalıcılığını artırabilmektedir (Wiles *et al*. 2008).

Çalışmamızda hemoliz enziminin genetik tayini yapılırken, sonuçlar, 4.14 ve 4.15'de gösterildiği gibi 14 izolatın (%46,66) hly genini içerdiğini göstermiş olup ona bakterinin konak içinde hayatta kalmasına yardımcı olan bir virülans faktörü vermiştir. hly geni, patojenik Escherichia coli'nin neden olduğu insan akut bağırsak ve idrar enfeksiyonlarında önemli bir role sahip olmakla beraber özellikle Irak'ta bağırsak bakterilerinde hly genini tespit etmek için az sayıda genetik çalışma vardır.

Bu sonuç izolatlarında %47 hly pozitif bulan Jalali *et al*. (2015) ile eşleşmekte olup, çalışma sonuçlarında idrar izolatlarındaki hly geninin yüzdesi (% 48) olduğundan Marrs *et al*. (2002) tarafından bulunan sonuçlara yakındır. Ancak toplam 63 *E. Coli* izolatın sadece 20'sini (%31,7) bulan Hasan *et al*. (2022) tarafından elde edilen sonuçlara benzer değildir. Ayrıca izolatlarının (%20,3)'ünün hly geni taşıdığını gösteren Yun *et al*. (2014) ve izolatlarının (%25,3) hly pozitif olduğunu gösteren Tiba *et al*. (2008) ile aynı fikirde değildir.

Hly geni, ökaryotik hücre zarlarının temel bileşenlerinden birisi olan hücreden salgılanan ve ökaryotik hücreler üzerindeki toksik etkileri nedeniyle istilasına ve yayılmasına yardımcı olan Escherichia coli bakterisinin sahip olduğu önemli virülans faktörlerinden biridir. Hly geni ise patojenik Escherichia coli'nin neden olduğu insan akut bağırsak ve idrar enfeksiyonlarında önemli bir role sahiptir (Aldick *et al*. 2007).

Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak şu çıkarımlara ulaşılmıştır: Genel olarak, gram-negatif bakteriler (özellikle Enterobacteriaceae familyasına ait olanlar), gram-pozitif bakterilere göre İYE'ye en sık neden olan bakterilerdir. Aynı bakteri türleri arasında idrar örneğinden izole edilip edilmediği konusunda önemli bir fark yoktur. İYE hastaları erkek veya kadın, bekar veya evli fark etmeksizin Siprofloksasin gibi farklı tipte antibiyotiklerle tedavi edilebilir. Ancak hastaların çocuk veya yetişkin veya yaşlı veya (kadın ise) hamile olup olmadığı akılda bulundurulmalıdır. *E. coli* bakterileri idrar örneklerinden en yüksek izolasyon yüzdesini oluşturmuştur. Çalışma esnasında Yermouk Eğitim Hastanesi ve Al-Imamein Al-Kadhimaein Hastanesi'nde karşılaşılan İYE vakaları, kadınlar ve erkekler arasında yaygın olmasına rağmen kadınların erkeklere kıyasla idrar yolu enfeksiyonu geçirme olasılığı daha yüksek olmuştur. Hemolizin üreten *E. coli* izolatları insan kanını analiz etme yetenekleriyle karakterize edilmiştir. Çalışma idrar yolu enfeksiyonlarında gram pozitif bakterilere göre en yaygın gram negatif bakteri türlerinin olduğunu göstermiştir.

KAYNAKLAR

Abe, C. M., Salvador, F. A., Falsetti, I. N., Vieira, M. A., Blanco, J., Blanco, J. E., ... and Gomes, T. A. 2008. Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic E. coli. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 52(3): 397-406.

Abu Shaqra Q. 2000. Occurrence and antibiotic sensitivity of Enterobacteriaceae isolated from a group of Jordanian patients with community acquired urinary tract infections. Cytobios, 101(396): 15–21.

Aldick, T., Bielaszewska, M., Zhang, W., Brockmeyer, J., Schmidt, H., Friedrich, A. W. and Karch, H. 2007. Hemolysin from Shiga toxin-negative Escherichia coli O26 strains injures microvascular endothelium. Microbes and Infection, 9(3): 282-290.

Alhamdany, M. H. A. 2018. Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from patients with diabetes mellitus and recurrent urinary tract infections in Babylon Province, Iraq. Medical Journal of Babylon, 15(1): 63.

AL-Shuwaikh, A. M., Ibrahim, I. A. and Al-Shwaikh, R. M. 2015. Detection of E. coli and rotavirus in diarrhea among children under five years old. Iraqi Journal of Biotechnology, 14(1): 85-92.

Armbruster, C. E., Smith, S. N., Mody, L. and Mobley, H. L. 2018. Urine cytokine and chemokine levels predict urinary tract infection severity independent of uropathogen, urine bacterial burden, host genetics, and host age. Infection and Immunity, 86(9): e00327-18.

Astal, Z. Y. and Sharif, F. A. 2002. Relationship between demographic characteristics and community-acquired urinary tract infection. Eastern Mediterranean Health Journal (al-Majallah al-sihhiyah li-sharq al-mutawassit), 8(1): 164–171.

Aydin, A., Ahmed, K., Zaman, I., Khan, M. S. and Dasgupta, P. 2015. Recurrent urinary tract infections in women. International Urogynecology Journal, 26(6): 795-804.

Bitew, A., Molalign, T. and Chanie, M. 2017. Species distribution and antibiotic susceptibility profile of bacterial uropathogens among patients complaining urinary tract infections. BMC Infectious Diseases, 17(1): 654.

Bronsema, D. A., Adams, J. R., Pallares, R. and Wenzel, R. P. 1993. Secular trends in rates and etiology of nosocomial urinary tract infections at a university hospital. The Journal of Urology, 150(2): 414-416.

Brown, A. and Smith, H. 2014. Benson's microbiological applications, laboratory manual in general microbiology, short version. McGraw-Hill Education.

Chang, S. L. and Shortliffe, L. D. 2006. Pediatric urinary tract infections. Pediatric Clinics, 53(3): 379-400.

Christensen, R. L., Creekmore, F. M., Strong, M. B. and Lugo, R. A. 2007. The predictability of urinary pathogens based on the urinalysis nitrite test in hospitalized patients. Hospital Pharmacy, 42(1): 52-56.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2022. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100*, 32nd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Cohen-Nahum, K., Saidel-Odes, L., Riesenberg, K., Schlaeffer, F. and Borer, A. 2010. Urinary tract infections caused by multi-drug resistant Proteus mirabilis: risk factors and clinical outcomes. Infection, 38(1): 41-46.

Cortes-Penfield, N. W., Trautner, B. W. and Jump, R. L. 2017. Urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria in older adults. Infectious Disease Clinics, 31(4): 673-688.

Davies, J. and Davies, D. 2010. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 74(3): 417-433.

Develay, A., Sauerborn, R. and Diesfeld, H. J. 1996. Utilization of health care in an African urban area: results from a household survey in Ouagadougou, Burkina-Faso. Social Science & Medicine, 43(11): 1611-1619.

Eltahawy, A. T. and Khalaf, R. M. 1988. Urinary tract infection at a university hospital in Saudi Arabia: Incidence, microbiology, and antimicrobial susceptibility. Annals of Saudi Medicine, 8(4): 261-266.

Ewers, C., Janßen, T., Kießling, S., Philipp, H. C. and Wieler, L. H. 2005. Rapid detection of virulence-associated genes in avian pathogenic Escherichia coli by multiplex polymerase chain reaction. Avian Diseases, 49(2): 269-273.

Fargason Jr, C. A., Bronstein, J. M. and Johnson, V. A. 1995. Patterns of care received by Medicaid recipients with urinary tract infections. Pediatrics, 96(4): 638-642.

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.

Foxman B. 2002. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. The American Journal of Medicine, 113 (Suppl 1A): 5–13.

Foxman B. 2003. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. Disease-A-Month: DM, 49(2): 53–70.

Funke, G. and Funke-Kissling, P. 2004. Evaluation of the new VITEK 2 card for identification of clinically relevant gram-negative rods. Journal of Clinical Microbiology, 42: 4067-4071.

Griebling, T. L. 2005. Urologic diseases in America project: trends in resource use for urinary tract infections in women. The Journal of Urology, 173(4): 1281-1287.

Griebling, T. L. 2007. Urinary tract infection in women. Urologic Diseases in America, 7: 587-619.

Guo, P., Ding, S., Zhang, H. and Zhang, X. 2014. A real-time optical tracking and measurement processing system for flyingtargets. ScientificWorld Journal, 2014: 976590.

Gutiérrez-Castrellón, P., Díaz-García, L., de Colsa-Ranero, A., Cuevas-Alpuche, J. and Jiménez-Escobar, I. 2015. Efficacy and safety of ciprofloxacin treatment in urinary tract infections (UTIs) in adults: A systematic review with meta-analysis. Gac. Med. Mexico, 151: 210-228.

Hannan, T. J., Totsika, M., Mansfield, K. J., Moore, K. H., Schembri, M. A. and Hultgren, S. J. 2012. Host–pathogen checkpoints and population bottlenecks in persistent and intracellular uropathogenic Escherichia coli bladder infection. FEMS Microbiology Reviews, 36(3): 616-648.

Hasan, R. N., Jasim, S. and Ali, Y. H. 2022. Detection of fimH, kpsMTII, hlyA, and traT genes in *Escherichia coli* isolated from Iraqi patients with cystitis. Gene Reports, 26: 101468.

Hoberman, A. and Wald, E. R. 1997. Urinary tract infections in young febrile children. The Pediatric Infectious Disease Journal, 16(1): 11-17.

Hooton, T. M. 2001. Recurrent urinary tract infection in women. International Journal of Antimicrobial Agents, 17(4): 259-268.

Ikähelmo, R., Siitonen, A., Heiskanen, T., Kärkkäinen, U., Kuosmanen, P., Lipponen, P. and Mäkelä, P. H. 1996. Recurrence of urinary tract infection in a primary care setting: analysis of a I-year follow-up of 179 women. Clinical Infectious Diseases, 22(1): 91-99.

Jacobs, L. G., Skidmore, E. A., Freeman, K., Lipschultz, D. and Fox, N. 1996. Oral fluconazole compared with bladder irrigation with amphotericin B for treatment of fungal urinary tract infections in elderly patients. Clinical Infectious Diseases, 22(1): 30-35.

Jalali, H. R., Pourbakhsh, A., Fallah, F. and Eslami, G. 2015. Genotyping of virulence factors of uropathogenic Escherichia coli by PZR. Novelty in Biomedicine, 3(4), 177-181.

Jantausch, B. A., Criss, V. R., O'Donnell, R., Wiedermann, B. L., Majd, M., Rushton, H. G., ... and Luban, N. L. 1994. Association of Lewis blood group phenotypes with urinary tract infection in children. The Journal of Pediatrics, 124(6): 863-868.

Jehad, M, Daia, A., Al-Aaly, M. A. and De Castro, R. 2000. Urinary tract infection in childhood. A practical approach and pediatric urologists point of view. Saudi Medical Journal, 21(8): 711-714.

Johnson, J. R. and Stell, A. L. 2000. Extended virulence genotypes of Escherichia coli strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. The Journal of Infectious Diseases, 181(1): 261-272.

Jürgens, D., Özel, M. and Takaisi-Kikuni, N. B. 2002. Production and characterization of Escherichia coli enterohemolysin and its effects on the structure of erythrocyte membranes. Cell biology International, 26(2): 175-186.

Kalantar, E., Soheyli, F., Salimi, H. and Soltan, D. M. M. 2011. Frequency, antimicrobial susceptibility and plasmid profiles of Escherichia coli pathotypes obtained from children with acute diarrhea, 2011: 23-28.

Karlowsky, J. A., Kelly, L. J., Thornsberry, C., Jones, M. E. and Sahm, D. F. 2002. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of Escherichia coli from female outpatients in the United States. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46(8): 2540-5.

Kausar, Y., Chunchanur, S. K., Nadagir, S. D., Halesh, L. H. and Chandrasekhar, M. R. 2009. Virulence factors, serotypes and antimicrobial suspectibility pattern of *Escherichia coli* in urinary tract infections. Al Ameen J Med Sci, 2(1): 47-51.

Kodner, C. M. and Thomas Gupton, E. K. 2010. Recurrent urinary tract infections in women: diagnosis and management. American Family Physician, 82(6): 638–643.

Kothari, A. and Sagar, V. 2008. Antibiotic resistance in pathogens causing community-acquired urinary tract infections in India: a multicenter study. The Journal of Infection in Developing Countries, 2(05): 354-358.

Kunin, C. M. 2000. Urinary tract infections in indian female. Clin. Infect. Dis. 18: 1-12.

Landers, T. and Kavanagh, K. T. 2016. Is the Presidential Advisory Council on Combating Antibiotic Resistance missing opportunities?. American Journal of Infection Control, 44(11): 1356-1359.

Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K., Wertheim, H. F., Sumpradit, N., ... and Cars, O. 2013. Antibiotic resistance—the need for global solutions. The Lancet Infectious Diseases, 13(12): 1057-1098.

Le Bouguenec, C., Archambaud, M. and Labigne, A. 1992. Rapid and specific detection of the pap, afa, and sfa adhesin-encoding operons in uropathogenic Escherichia coli strains by polymerase chain reaction. Journal of Clinical Microbiology, 30(5): 1189-1193.

Levinson, W. 2004. Klebsiella in: Medical Microbiology & Immunology examination & Broad review. 8th ed. USA.

Ling, T. K., Tam, P., Liu, Z. and Cheng, A. F. 2001. Evaluation of VITEK 2 rapid identification and susceptibility testing system against gram-negative clinical isolates. Journal of Clinical Microbiology, 39: 2964-2966.

MacFaddin, J. F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.

Mandell, G. L. Bennett, J.E. and Dolin, R. 2005. Principles and practice of infectious diseases. Churchill Livingstone, 881-882.

Mansour, A., Mahdınezhad, M. and Pourdangchi, Z. 2009. Study of bacteria isolated from urinary tract infections and determination of their susceptibility to antibiotics, 2009: 118-123.

Marrs, C. F., Zhang, L., Tallman, P., Manning, S. D., Somsel, P., Raz, P. and Foxman, B. 2002. Variations in 10 putative uropathogen virulence genes among urinary, faecal and peri-urethral Escherichia coli. Journal of Medical Microbiology, 51(2): 138-142.

Marshall, B. M. and Levy, S. B. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. Clinical Microbiology Reviews, 24(4): 718-733.

Mehr, S. S., Powell, C. V. E. and Curtis, N. 2004. Cephalosporin resistant urinary tract infections in young children. Journal of Paediatrics and Child Health, 40(1-2): 48-52.

Michael, C. A., Dominey-Howes, D. and Labbate, M. 2014. The antimicrobial resistance crisis: causes, consequences, and management. *Frontiers in* Public Health, 2: 145.

Mittal, S., Sharma, M. and Chaudhary, U. 2014. Study of virulence factors of uropathogenic Escherichia coli and its antibiotic susceptibility pattern. *Indian* Journal of Pathology and Microbiology, 57(1): 61.

Mladin, C., Usein, C. R., Chifiriuc, M. C., Palade, A., Slavu, C. L., Negut, M. and Damian, M. 2009. Genetic analysis of virulence and pathogenicity features of uropathogenic Escherichia coli isolated from patients with neurogenic bladder. Romanian Biotechnological Letters, 14(6): 4906-4911.

Nanakali, Z. G. and Ahmad, Z. F. 2015. Antibiotic resistance study and detection of virulence gene among Uropathogenic E. coli. Kirkuk University J. Scientific Studies, 10(3): 205-229.

Nathan, C. and Cars, O. 2014. Antibiotic resistance—problems, progress, and prospects. New England Journal of Medicine, 371(19): 1761-1763.

Naveen, R. and Mathai, E. 2005. Some virulence characteristics of uropathogenic Escherichia coli in different patient groups. Indian Journal of Medical Research, 122: 143-147.

Nosseir, S. B., Lind, L. R. and Winkler, H. A. 2012. Recurrent uncomplicated urinary tract infections in women: A review. Journal of Women's Health, 21(3): 347-354.

Ojaimi, R. R. and Al-Nashe, A. A. R. 2009. Molecular detection of hlyA gene from escherichia coli hemolytic isolated from Intestinal and urinary tract infections.

Orenstein, R. and Wong, E. S. 1999. Information from your family doctor: Urinary tract infections. American Family Physician, 59(5): 1237.

Otto, G., Magnusson, M., Svensson, M., Braconier, J. and Svanborg, C. 2001. pap genotype and P fimbrial expression in Escherichia coli causing bacteremic and nonbacteremic febrile urinary tract infection. Clinical Infectious Diseases, 32(11): 1523-1531.

Patel, H. B., Soni, S. T., Bhagyalaxmi, A. and Patel, N. M. 2019. Causative agents of urinary tract infections and their antimicrobial susceptibility patterns at a referral center in Western India: An audit to help clinicians prevent antibiotic misuse. Journal of Family Medicine and Primary Care, 8(1): 154-159.

Payne, D. J., Miller, L. F., Findlay, D., Anderson, J. and Marks, L. 2015. Time for a change: Addressing R and D and commercialization challenges for antibacterials. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 370(1670): 20140086.

Prestinaci, F., Pezzotti, P. and Pantosti, A. 2015. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. Pathogens and Global Health, 109(7): 309-318.

Priyadharsini, M., Bhardwaj, S. and Sheeba, E. 2014. Isolation, identification of microbial isolates from urinary tract infection Patients and evaluation of antimicrobial activity using plant extracts. Int. J. Curr. Microbial. Appl. Sci., 3(4): 153-160.

Raka, L., Mulliqi-Osmani, G., Berisha, L., Begolli, L., Omeragiq, S., Parsons, L., ... and Jakupi, X. 2004. Etiology and susceptibility of urinary tract isolates in Kosova. International Journal of Antimicrobial Agents, 23: 2-5.

Ramesh, N., Sumathi, C.S., Balasubramanian, V., Ravichandran, K.P. and Kannan, V.R. 2008. Urinary tract ınfection and antimicrobial susceptibility pattern of extended spectrum of beta lactamase producing clinical ısolates. Advances in Biological Research, 2(5-6): 78-82.

Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., ... and Vila, J. 2015. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. New Microbes and New Infections, 6: 22-29.

Ronald, A. 2002. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. The American Journal of Medicine, 113(1): 14-19.

Rossolini, G. M., Arena, F., Pecile, P. and Pollini, S. 2014. Update on the antibiotic resistance crisis. Current Opinion in Pharmacology, 18: 56-60.

Sambrook, J. and Russell, D. W. 2001. Molecular cloning: A laboratory manual, 854 Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, 855.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual, Cold spring harbor laboratory press.

Santo, E., Macedo, C. and Marin, J. M. 2006. Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli from a university hospital in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 48(4): 185-188.

SAS. 2018. Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.6th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

Sawalha, R. M. H. 2009. Prevalence of urinary tract infection among children of primary schools in Nablus, Doctoral dissertation.

Schlager, T. A. 2001. Urinary tract infections in children younger than 5 years of age. Paediatric drugs, 3(3): 219-227.

Schneider, P. F. and Riley, T. V. 1996. Staphylococcus saprophyticus urinary tract infections: epidemiological data from Western Australia. European Journal of Epidemiology, 12(1): 51-54.

Scholes, D., Hooton, T. M., Roberts, P. L., Stapleton, A. E., Gupta, K. and Stamm, W. E. 2000. Risk factors for recurrent urinary tract infection in young women. The Journal of Infectious Diseases, 182(4): 1177-1182.

Sibi, G., Devi, A. P., Fouzia, K. and Patil, B. R. 2011. Prevalence, microbiologic profile of urinary tract infection and its treatment with trimethoprim in diabetic patients. Research Journal of Microbiology, 6(6): 543.

Singer, A. C., Shaw, H., Rhodes, V. and Hart, A. 2016. Review of antimicrobial resistance in the environment and its relevance to environmental regulators. Frontiers in Microbiology, 7: 1728.

Smellie, J. M., Prescod, N. P., Shaw, P. J., Risdon, R. A. and Bryant, T. N. 1998. Childhood reflux and urinary infection: A follow-up of 10–41 years in 226 adults. Pediatric Nephrology, 12(9): 727-736.

Soriano, F., Aguado, J. M., Ponte, C., Fernández-Roblas, R. and Rodríguez-Tudela, J. L. 1990. Urinary tract infection caused by Corynebacterium group D2: report of 82 cases and review. Reviews of Infectious Diseases, 12(6): 1019-1034.

Stamm, W. E. and Norrby, S. R. 2001. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. The Journal of infectious diseases, 183(Supplement 1): 1-4.

Stapleton, A. E. 2003. Urinary tract infections in healthy women. Curr. Treat. Opt. Infect. Dis., 5: 43-51.

Strom, B. L., Collins, M., West, S. L., Kreisberg, J. and Weller, S. 1987. Sexual activity, contraceptive use, and other risk factors for symptomatic and asymptomatic bacteriuria: A case-control study. Annals of Internal Medicine, 107(6): 816-823.

Tiba, M. R., Yano, T. and Leite, D. D. S. 2008. Genotypic characterization of virulence factors in Escherichia coli strains from patients with cystitis. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 50: 255-260.

Todar, K. 2008. Pathogenic E. coli. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. Today's Online Text Book of bacteriology, 2008: 16-20.

Usein, C. R., Damian, M., Tatu-Chitoiu, D., Capusa, C., Fagaras, R., Tudorache, D., ... and Le Bouguénec, C. 2001. Prevalence of virulence genes in Escherichia coli strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 5(3): 303-310.

Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., ... and Laxminarayan, R. 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. Proceedings of the National Academy of Sciences, 112(18): 5649-5654.

Ventola, C. L. 2015. The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. Pharmacy and Therapeutics, 40(4): 277-83.

Wanger, A., Chavez, V., Huang, R., Wahed, A., Dasgupta, A. and Actor, J. K. 2017. Microbiology and molecular diagnosis in pathology: A comprehensive review for board preparation, certification and clinical practice.

Wiles, T. J. and Mulvey, M. A. 2013. The RTX pore-forming toxin α-hemolysin of uropathogenic Escherichia coli: Progress and perspectives. Future Microbiology, 8(1): 73-84.

Wiles, T. J., Kulesus, R. R. and Mulvey, M. A. 2008. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli. Experimental and Molecular Pathology, 85(1): 11-19.

Wullt, B. 2003. The role of P fimbriae for Escherichia coli establishment and mucosal inflammation in the human urinary tract. International Journal of Antimicrobial Agents, 21(6): 605–621.

Wullt, B., Bergsten, G., Samuelsson, M. and Svanborg, C. 2002. The role of P fimbriae for Escherichia coli establishment and mucosal inflammation in the human urinary tract. International Journal of Antimicrobial Agents, 19(6): 522-538.

Wyborn, N. R., Clark, A., Roberts, R. E., Jamieson, S. J., Tzokov, S., Bullough, P. A. and Green, J. 2004. Properties of haemolysin E (HlyE) from a pathogenic *Escherichia coli* avian isolate and studies of HlyE export. Microbiology, 150(5): 1495-1505.

Yamamoto, S., Terai, A., Yuri, K., Kurazono, H., Takeda, Y. and Yoshida, O. 1995. Detection of urovirulence factors in Escherichia coli by multiplex polymerase chain reaction. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 12(2): 85-90.

Yun, K. W., Kim, H. Y., Park, H. K., Kim, W. and Lim, I. S. 2014. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 47(6): 455-461.

Zhanel, G. G., Hisanaga, T. L., Laing, N. M., DeCorby, M. R., Nichol, K. A., Palatnick, L. P., ... and NAUTICA Group. 2005. Antibiotic resistance in outpatient urinary isolates: final results from the North American Urinary Tract Infection Collaborative Alliance (NAUTICA). International Journal of Antimicrobial Agents, 26(5): 380-388.

EKLER

EK. 1 Etik Onay

IRAK CUMHURİYETİ

SAĞLIK BAKANLIĞI /ALBİA

BAĞDAT İLİ SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ /ALKARH

EĞİTİM VE İNSANİ GELİŞME MERKEZİ

No:50799

Tarih :20.06.2021

İlgili Makama , Yarmuk Eğitim Hastanesi'ne

Konu : Araştırma Tezi Değiştirme

Araştırmacı **Abdulrahman Mahmud Ataullah**'ın (Master -Biyoloji İhtisası Araştırması) , (Orta kulak enfeksiyonundan bakterilerin izolasyonu ve tanımlanması ve antibiyotiklere duyarlılıklarının değerlendirilmesi) adlı bilimsel araştırmasında mevcut düzenlme ve imkanlara göre ve herhangi bir maddi sorumluluk üstlenmeden görevinin kaolaylaştırmasına dairemizce onay verşlmiştir.yeni tez adı **(bakterilerin idrar yolu yaralanmaları enfeksiyonundan izolasyonu ve tanımlanması ve polimeraz zincir reaksiyonu tekniği kullanılarak antibiyotiklere ve genetik tanıya duyarlılıklarının değerlendirilmesi (PCR))** . Ayırca Laboratuvar numunelerinin alınması için hasta onayı alınmalıdır.

Saygılarmla ..

Genel Müdür

20.06.2021

Dr. Ahmed Halil NAYEF

TÜRKLİSAN TERCÜME VE DANIŞMANLIK
ATASOY YATIRIM TEKNOLOJİ ELEKTRONİK
DANIŞMANLIK SAN.VE DIŞ.TİC.A.Ş.
Molla Gürani Mah.Tanburi Cemil Bey Sok.
No:3/11 Fatih / İSTANBUL Tel:0212 523 43 63
İTO Sic.No:60954-5 Beyazıt V.D.

İş Bu ... den ... ye
Çevirinin Dairemiz Yeminli Tercümanlarından
Türklisan Tercüme Bürosu Yeminli Çevirmeni
Tarafından Aslına Uygun Yapıldığını ve Diğer Sayfalarda Sağlı Kalan
Nüshasına Uygun Olduğunu Tasdik Ederim

TÜRKLİSAN TERCÜME YEMİNLİ TERCÜMANLIK

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Abdulrahman ATTALLAH

Eğitim

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

İş Deneyimi

Yıl	**Kurum**	**Görev**
2015-2018	SAMARRA, Biyoloji Bölümü	Laboratuvar Teknisyeni

Akademik Aktiviteler

-