ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İDRAR YOLU ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN KLEBSİELLA PNEUMONİAE VE ESCHERİCHİA COLİ BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MOLEKÜLER AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Wasan Jasim Mohammed AL-MAHFOODH

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI

2021

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Wasan Jasim Mohammed AL-MAHFOODH tarafından hazırlanan "**İdrar Yolu Enfeksiyonu Olan Hastalardan İzole Edilen *Klebsiella Pneumoniae* ve Escherichia Coli Bakterilerinin Antibiyotik Direncinin Moleküler Açıdan Değerlendirilmesi"** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından 29/ 07/2021 tarihinde oy çokluğu/ oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman **:** *Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR*
Eş Danışman **:** *Doç. Dr. Ali Hafedh ABBAS*

Jüri Üyeleri **:**

Başkan ***:*** *Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR*
Çankırı Karatekin Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı

Üye **:** *Dr. Öğr. Üyesi Pınar ARSLAN*
Çankırı Karatekin Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı

Üye ***:*** *Dr. Öğr. Üyesi Ümit YIRTICI*
Kırıkkale Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı

Yukarıdaki Sonucu Onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğine göre hazırlamış olduğum "**İdrar Yolu Enfeksiyonu Olan Hastalardan İzole Edilen Klebsiella Pneumoniae ve Escherichia Coli Bakterilerinin Antibiyotik Direncinin Moleküler Açıdan Değerlendirilmesi**" 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 Programıyla 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 Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğine ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim. (29/07/2021).

Wasan Jasim Mohammed AL-MAHFOODH

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İDRAR YOLU ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN KLEBSİELLA PNEUMONİAE VE ESCHERİCHİA COLİ BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MOLEKÜLER AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Wasan Jasim Mohammed AL-MAHFOODH

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Eş Danışman: Doç. Dr. Ali Hafedh ABBAS

İdrar yolları enfeksiyonu, sıklıkla mesanenin ve dolayısıyla üriner sistemin etkilendiği bakteriyel bir enfeksiyondur. İdrar yolları enfeksiyonuna neden olan üropatojenik bakterilerin başında *E. coli* gelmektedir. Üropatojenik *E. coli*, biyofilm oluşumu ve ürotelyal hücre invazyonu mekanizmaları ile idrar yolları enfeksiyonuna yol açmada oldukça etkin ve başarılıdır. İdrar yolları enfeksiyonlarına neden olan diğer organizamalar arasında Enterobacteriaceae ailesinin üyeleri, streptococci ve staphylococci türleri ve levürler bulunmaktadır. Ayrıca, *K .penumoniae* de idrar yolları enfeksiyonuna neden olan bir diğer önemli bakteridir. İdrar yolları enfeksiyonlarına yol açan bakterileri türlerinin tespitinde PCR yönteminden yararlanılmaktadır. PCR yöntemi ile standart klinik mikrobiyoloji yöntemleri kullanılarak görülemeyen bakteri türleri tespit edilebilmektedir. Bu çalışmada, İdrar yolu enfeksiyonuna neden olan *K. penumoniae* ve *E. coli* bakterilerinin antibiyotik direnci PCR yöntemi ile analiz edilmiştir. Çalışmamız kapsamında yürütülen deneyler sonucunda *E.coli* suşlarının virulans faktörlerinden fimA ile GSBL oluşturan genlerden CTX-M'in ilişkili olduğu, GSBL pozitif ve negatif suşlarda aynı anda birden fazla virulans faktörünün bulunabileceği, GSBL pozitif suşlarda CTX-M geni ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunduğu bu genin GSBL negatif suşların hiç birinde saptanmadığı görülmektedir. CTX-M geninin betalaktam grubu antibiyotiklere direnç gelişiminde daha baskın olduğu görülmektedir. Çalışmamız kapsamında yürütülen deneyler sonucunda *K.pneumoniae* suşlarının B-laktamaz genleri (blaTEM, blaSHV, ve blaCTX-M) direnç genlerinin yüksek prevalansı ile *K. pneumoniae* suşlarının--laktam ve kinolon antimikrobiyallerine artan direnci arasında pozitif ilişki olduğu görülmektedir. Öte yandan, *K. pneumoniae* suşlarında dirençle ilişkili farklı gen üretiminin varlığını saptamak için fenotipik ve genotipik yöntemlere ihtiyaç vardır.

2021, 65 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *K. pneumoniae, E. Coli*, İdrar Yolu Enfeksiyonu, Antibiyotik Direnci, PCR

ABSTRACT

Master of Science Thesis

THE MOLECULAR STUDY FOR EVALUATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF KLEBSIELLA PNEUMONIAE AND ESCHERICHIA COLI BACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS WITH URINARY TRACT INFECTION

Wasan Jasim Mohammed AL-MAHFOODH

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

Advisor: Assist. Prof. Dr. Filiz SARIKAYA PEKACAR
Co-Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ali Hafedh ABBAS

Urinary tract infection is a bacterial infection that often affects the bladder and thus the urinary system. *E.coli* is one of the leading uropathogenic bacteria that cause urinary tract infections. Uropathogenic *E.coli* is highly effective and successful in causing urinary tract infections through biofilm formation and urothelial cell invasion mechanisms. Other organisms that cause urinary tract infections include members of the Enterobacteriaceae family, streptococci and staphylococci species and perch. In addition, *K. penumoniae* is another important gram negative bacterium that causes urinary tract infections. PCR technique is used to detect the types of bacteria that cause urinary tract infections. With the PCR technique, unseen bacterial species can be detected using standard clinical microbiology methods. In this study, antibiotic resistance of *K.penumoniae* and *E.coli* bacteria causing urinary tract infection was analyzed by PCR technique. As a result of the experiments conducted within the scope of our study, we found that fimA, one of the virulence factors of *E.coli* strains, and CTX-M, one of genes that produce ESBL, are associated with CTX-M, ESBL positive and negative strains can have more than one virulence factor at the same tim. a statistically significant relationship with the CTX-M gene in ESBL positive strains. It appears that this gene is not detected in any of the ESBL negative strains. It seems that the CTX-M gene is more dominant in the development of resistance to betalactam group antibiotics. As a result of the experiments conducted within the scope of our study, it is seen that there is a positive relationship between the high prevalence of the B-lactamase genes (blaTEM, blaSHV, and blaCTX-M) resistance genes of *K. pneumoniae* strains and the increasing resistance of *K. pneumoniae* strains to lactam and quinolone antimicrobials. On the other hand, phenotypic and genotypic methods are needed to detect the presence of different resistance-related gene production in *K. pneumoniae* strains.

2021, 65 pages

KEYWORDS: *K. pneumoniae, E. Coli,* Urinary Tract Infection, Antibiotic Resistance, PCR

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

“İdrar Yolu Enfeksiyonu Olan Hastalardan İzole Edilen Klebsiella pneumoniae ve Escherichia coli Bakterilerinin Antibiyotik Direncinin Moleküler Açıdan Değerlendirilmesi” adlı bu Yüksek Lisans çalışmamın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, her türlü yardımını esirgemeyen, her zaman destekleyen ve inanılmaz bir anlayış gösteren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR’a. ve çalışmanın yönlendirilmesinde ve yürütülmesinde yol gösteren herkese sonsuz teşekkür ederim.

Literatür araştırmalarımda yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Ali Hafedh ABBAS’a teşekkür ederim. Yüksek Lisans çalışmalarım sırasında bana her zaman çok destek olan Dr. Muhammed LFTA’a çok teşekkür ederim.

Araştırmamdaki desteklerinden dolayı Çankırı Karatekin üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsüne teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili ailem'e en içten duygularımla teşekkür ederim. Bana her zaman destek olan annem, kardeşlerim ve sevgili eşim Hussein NAYYEF’e teşekkür ederim.

Araştırmamdaki desteklerinden dolayı AL Ramadi Kadın ve Çocuk Hastanesi'e teşekkürlerimi sunarım.

Wasan Jasim Mohammed AL-MAHFOODH
ÇANKIRI, Temmuz 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
SİMGELER DİZİNİ v
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
ÇİZELGELER DİZİNİ vii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1 İdrar Yolları Enfeksiyonları 3
2.1.1 Boşaltım sistemi 3
2.1.2 Tanım, türler ve teşhis 4
2.1.3 Bakteriyoloji 6
2.1.4 Bulaşma 8
2.1.5 Yaygınlık, görülme sıklığı 10
2.1.6 Morbidite 11
2.1.7 İdrar yolları enfeksiyonlarında antibiyotik direnci 12
2.2 İdrar Yolları Enfeksiyonlarında *Klebsıella Pneumonıea* 14
2.3 İdrar Yolları Enfeksiyonlarında *Escherichia coli* 16
2.4 İntegronlar 20
2.5 Antibiyotik Direnci 21
2.5.1 Antibiyotik direncinin genetik temelleri 22
2.5.2 Antibiyotik direnç mekanizmasının temelleri 24
3. MATERYAL VE YÖNTEM 33
3.1 Hastaların Seçimi 33
3.2 Numunelerin Toplanması 34
3.3 Numunelerin Hazırlanması 34
3.4 Suşlar ve Antibiyotik Direnç Analizi 35
3.5 DNA İzolasyonu 35
3.6 Sınıf 1 İntegron İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) 36
3.7 Kullanılan Malzemeler 38
4. SONUÇLAR 40
4.1 *E. Coli* 40
4.1.1 GSBL pozitif suşlar 40
4.1.2 GSBL negatif suşlar 42
4.2 *Klebsiella Pneumoniae* 43
4.2.1 Antibiyotik duyarlılık testi 75 *K. pneumoniae* suşu için yapılmıştır 45
4.2.2 *K. pneumoniae* ve *E. coli* bakterilerinde BlaSHV genlerinin tespiti 47
4.2.3 *K. pneumoniae* ve *E. coli* bakterilerinde qarB ve Ib-cr genlerinin tespiti 50
4.3 Değerlendirme 52
4.3.1 *E. coli* 52
4.3.2 *K. pneumoniae* 52
KAYNAKLAR 53
ÖZGEÇMİŞ 65

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde Yüz
AME	Aminglikozid Modifiye edici Enzimleri
B-Laktamaz	Beta Laktamaz
℃	Santigrat
CFU	Koloni Oluşturan Birimler
cm	Santimetre
dNTP	Deoksinükleozid trifosfat
E. Coli	Escherichia Koli
ESBL	Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz
Int	İntegral
İYE	İdrar Yolları Enfeksiyonu
K. Pneumoniae	*Klebsiella Pnömonisi*
LB	Luria-Bertani (Etsuyu Sıvısı)
MDR	Çoklu İlaç Direnci
MGE	Mobil Genetik Elementler
PCR	Polimeraz Zincir Rekasiyonu
RPM	dakikadaki devir sayısı (Rotation per minute)
ST	Sıra Türü
TET	Tetrasiklin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Boşaltım Sistemi 3
Şekil 2.2 Popülasyona göre idrar yolu enfeksiyonu bakteriyolojisindeki değişim 7
Şekil 4.1 GSBL genleri ve virulans faktörleri jel elektroforezde dağılımı sırasıyla CTX-M, 'e ait 2 örnek, fimA'ya ait 2 örnek, TEM'e ait 3 örnek, sfa'ya ait 2 örnek, SHV'ye ait 3 örnek ve pap'a ait 2 örnek gösterilmiştir. Sırası; 100 bp marker, 1-1, 1-4, 2-2, 2- 42
Şekil 4.2 Agaroz Jel Elektrofezi: BlaSHV741 bp. Multipleks PCR ürünleri BlaSHV741 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 43 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA ladderi 47
Şekil 4.3 Multipleks PCR ürünleri blaCTX-M 766bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 41 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA ladderi. 48
Şekil 4.4 Agaroz Jel Elektrofezi: BlaCTX-M-1 260 bp. Multipleks PCR ürünleri BlaCTX-M-1 260 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 41 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA ladderi 49
Şekil 4.5 Multipleks PCR ürünleri Bla CTX-M-2 341 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1'den 11'e ve *E. coli*'den 12'den 18'e kadardır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA lidderi 49
Şekil 4.6 Multipleks PCR ürünleri qarB 469 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 38 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA lidderi 50
Şekil 4.7 Multipleks PCR ürünleri Ib-cr - 554 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 38 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA lidderi 51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada Kullanılacak Spesifik Primerler ve Uygulama Sıcaklıkları (Tm) 37

Çizelge 4.1 GSBL (+) *E. coli* suşlarında Antbiyotik Direnci ve Antibityotik Duyarlılığı 40

Çizelge 4.2 *K. Pneumoniae*'nin antibiyotik direnci ile ilişkili genleri için PCR'de kullanılan primerlerin dizilenmesi 44

Çizelge 4.3 *K. pneumoniae*'nin 14 antimikrobiyal direnci ile ilişkili genleri için PCR'nin sıcaklık döngü koşulları 45

Çizelge 4.4 *K. Pneumoniae*'nin antibiyotik direnç profili.....46

1. GİRİŞ

Enterokoklar, Ağız boşluğunda gastrointestinal sistemde ve ağız boşluğunda yaşayan mikroorganizmalardır. İdrar, karın boşluğu, kan akımı, safra kanalı, yanıklar ya da ciddi yara yüzeylerinde bulunmaktadır (Shepard and Gilmore 2002). *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, geniş bir enfeksiyon spektrumuna neden olan yaygın insan patojenleridir. Antimikrobiyal direnç, çeşitli bölgelerde farklı paternlere sahip bu enfeksiyonların yönetiminde temel bir engeldir. Enterobacteriaceae'de direncin ortaya çıkışı ve yayılması, ciddi nozokomiyal enfeksiyonların tedavisini karmaşıklaştırmakta ve mevcut tüm ajanlara dirençli türler oluşturmakla tehdit etmektedir. Yoğun bakım ünitesinde *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonlarının yaklaşık % 20'si ve Enterobacter spp enfeksiyonlarının %31'i. *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) normalde bağırsaklarınızda ve dışkılarınızda yaşayan bakterilerdir. Günümüzde antibiyotik direnci önemli bir halk sağlığı sorunudur. Antibakteriyel direnç, farklı mekanizmalar ile gelişebilir. Bazı mikroorganizmalar birkaç mekanizmayı barındırarak birden çok ilaca dirençli olma potansiyeli taşırlar. Birden çok ilaca dirençli Gram negatif enterik bakterilerin oluşması hem nozokomiyal, hem toplumdan kazanılan infeksiyonların yönetiminde büyük bir problem oluşturmaktadır. Antibiyotik direnci ya da çoklu ilaç direnci, gelişmiş ülkelerde sıklıkla görülen, ciddi bir sağlık problemi haline gelmiştir (Shon *et al*. 2013).

Laboratuar hayvanları üzerinde yapılan birkaç deney, bu suşların, hemolizin, Hyaluronidaz, Bakteriyosin ve lipaz gibi salgı virülans faktörlerine bölünebilen çoklu virülans faktörlerine sahip olduklarından birçok enfeksiyona neden olabileceğini göstermiştir (Bin-Asif and Ali 2019). *E. coli,* insanlarda ve ılık kanlı hayvanlarda yaygın olarak bulunan bir bakteridir. Enfeksiyonların yaygın bir nedeni olan *Escherichia coli*'nin patojenitesinde çeşitli virülans faktörleri rol oynamaktadır. *E. coli*'nin UT enfeksiyonunun ana nedensel ajanı olduğunu düşünüyormuştur (Ahmed *et al*. 2019). *E. coli* suşlarının çoğu zararsızdır. Bununla birlikte, Shiga toksinleri üreten *Escherichia coli* bakteri gibi bazı türler ağır gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilir. Bu mikrop, insanlara öncelikle çiğ veya az pişmiş kıyılmış et ürünleri, çiğ süt ve kontamine çiğ sebze ve filizler gibi kontamine olmuş yiyeceklerin tüketimi yoluyla iletilir. Bu *Escherichia coli, Shigella*

dizanteri mikropu tarafından üretilen toksini andırdığından, shiga toksini olarak bilinen toksini üretir. Shiga toksinleri üreten *Escherichia coli,* 37°C optimum sıcaklıkta 7°C ile 50° C arasındaki sıcaklıklarda büyüyebilir. Bazı Shiga toksinler tarafından üretilen bazı *Escherichia coli* türleri asidik gıdalarda maksimum pH 4,4 ve minimum olarak büyüyebilir. 0,95 sulu su (Muniesa *et al.* 2012). Shiga toksini üreten *Escherichia coli,* tüm parçaları 70°C'ye veya daha fazlasına ulaşana kadar iyi yemek pişirme ile elimine edilebilir. *Escherichia coli* O157: H7'nin en önemli serotipleri, halk sağlığında üretilen *E. coli*'dir; ancak, diğer serotipler sıklıkla sporadik vakalar ve salgınlarla ilişkilendirilmiştir (Kareem and Khudaier 2016).

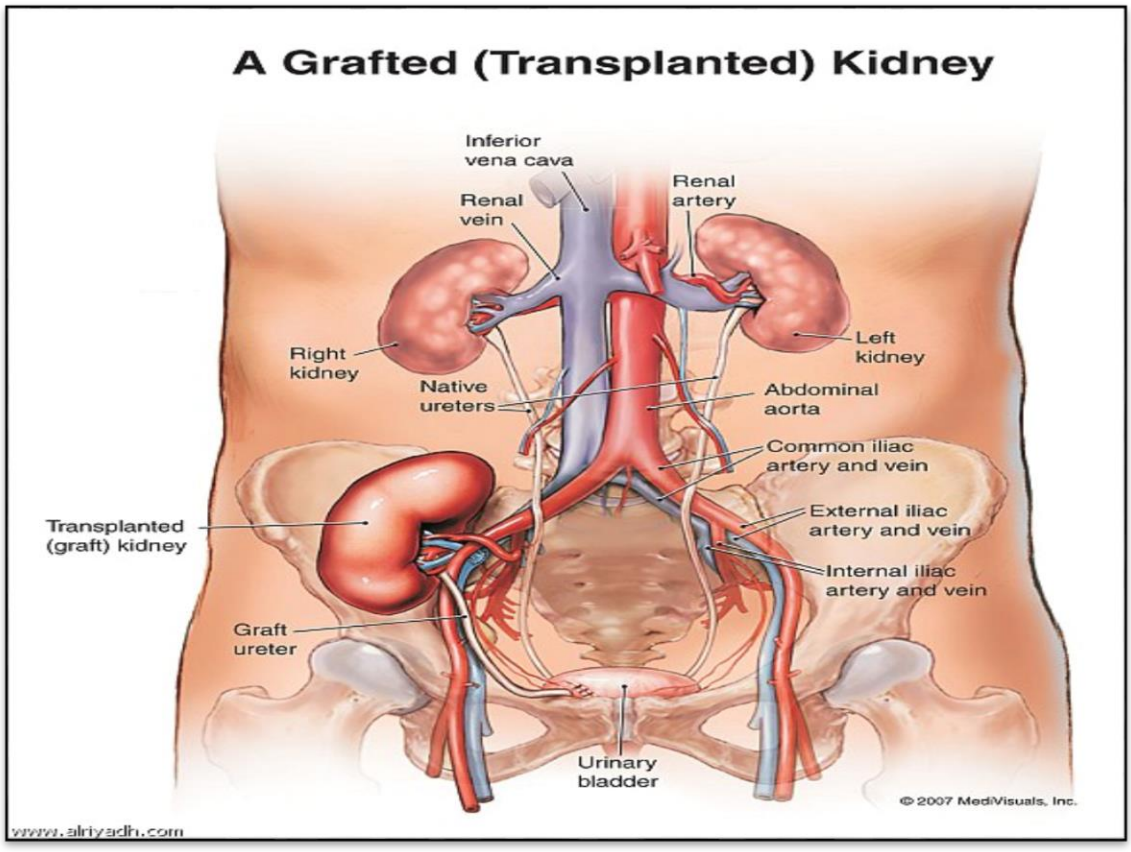
Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) normalde bağırsaklarınızda ve dışkılarınızda yaşayan bakterilerdir. Bu bakteriler bağırsaklarınızdayken zararsızdır. Fakat vücudunuzun başka bir bölümüne yayılırlarsa, ciddi enfeksiyonlara neden olabilirler. *Klebsiella pneumoniae*, vücudun bir bölümünü akciğer, mesane, beyin, karaciğer, gözler, kan ve yaralar gibi enfekte edebilmektedir. Enfeksiyonun yeri semptomları ve tedaviyi belirleyecektir. Genellikle sağlıklı insanlar *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonlarına yakalanmazlar. tıbbi bir durumdan veya uzun süreli antibiyotik kullanımından dolayı zayıf bir bağışıklık sistemi olması durumunda daha olasıdır (Kirsten 2019). *Klebsiella Pneumonia*, çok çeşitli antibiyotiklere direnç gösterme yeteneğine sahiptir ve onu insanlar için en tehlikeli ve tehlikeli patojenlerden ve idrar yolu enfeksiyonu ve diğer hastalıklara neden olan en tehlikeli patojenlerden biri yapar (Henrique's and Fonseca 2006). Bu bakteri türleri, integron genlerine sahiptir (Int 1, Int 2, Int 3) (Cambray *et al*. 2010). Bu tür bakteri içerisindeki integron genleri ile ilgili çalışmaların eksikliği ve insan kaynaklı hastalıklar ve bu bakterilere dirençli antibiyotik bilgisi konusundaki önemi. Son araştırmalar, bu bakterilerin moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte insan enfeksiyonuna neden olan antibiyotiğe dirençli suşların ortaya çıkmasına katkıda bulunan yüzlerce gene sahip olduğunu göstermektedir (Collis *et al*. 2002). Bu araştırmada, idrar yolu enfeksiyonu (İYE) geçiren hastalardan alınan idrar örneklerinde *E. coli* ve *K. pneumoniae* bakterilerinin saptanması, antibiyotik duyarlılığının saptanmasında moleküler ölçekte (PCR tekniği) biyokimyasal değerlendirmenin yapılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İdrar Yolları Enfeksiyonları

2.1.1 Boşaltım sistemi

Boşaltım sistemi, böbrekler, üreter, mesane ve üreradan oluşmaktadır. İnsan boşaltım sistemi ya da başka bir ifade ile üriner sistem, toksik maddelerin vücuttan uzaklaştırılmasında ve kanın temizlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Gordon *et al*. 2003). Boşaltım sistemi ve organları Şekil 2.1'de gösterilmektedir:



Şekil 2.1 Boşaltım Sistemi (Alriyadh 2019)

2.1.2 Tanım, türler ve teşhis

İdrar yolları enfeksiyonları, yalnızca mesane ile sınırlı olan alt idrar yolu enfeksiyonu ve piyelonefrit ile karakterize üst idrar yolu enfeksiyonu olarak ya da başka bir ifade ile karmaşık olmayan veya karmaşık idrar yolu enfeksiyonu olmak üzere farklılık göstermektedir. Karmaşık olmayan idrar yolu enfeksiyonu, yapısal veya işlevsel anormalliği olmayan, hamileliğin söz konusu olmadığı veya Katater gibi herhangi bir aletin takılmadığı normal bir konakta meydana gelen bakteriyel bir enfeksiyondur. Bunun dışındaki tüm vakalar karmaşık idrar yolları enfeksiyonu olarak değerlendirilmektedir (Foxman 2010).

İdrar yolları enfeksiyonu, belirli bir eşik değerine bağlı olarak tanımlanmaktadır ki bu değer genellikle 1000 cfu/mL idrar olarak tanımlanmaktadır (Rubin *et al*. 1992). Ancak bu değerin onda biri ve on katı gibi değerlerde de idrar yolları enfeksiyonu tanısı konulabilmektedir (Warren *et al*. 1999). Bununla birlikte, üriner semptomlar ve bakteriüri sıklıkla birbirinden bağımsız olarak ortaya çıkmaktadır. Klasik idrar yolları semptomları ile bir sağlık kuruluşuna başvuran kadınların yaklaşık %20'sinde negatif idrar kültürü olduğu bilinmektedir (Ferry *et al*. 2007). Ayrıca ifade etmek gerekir ki, herhangi bir semptom sergilemeyen sağlıklı bireylerin idrarında da önemli miktarda bakteri olduğu bilinmektedir (Nicolle 2000).

Asemptomatik bakteriüri riski, cinsel aktivite ile ilerleyen yaşla doğru orantılı bir artış göstermektedir. Asemptomatik bakteriüri semptomatik idrar yolları enfeksiyonu riskini artırsa da, gebe olanlar veya invaziv genitoüriner operasyon geçirenler dışında tedavi edilmemesi gerektiği bildirilmektedir (Nicolle 2005). Ayrıca, asemptopmatik bakteriüri tedavisi, bireyin mikrobiyotasını olumsuz yönde etkilemekte ve antibiyotiğe dirençli organizmaları seçerek potansiyel zararların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Dethlefsen *et al*. 2008). İdrar semptomları arasında en yaygın olanları sık idrara çıkma ve idrar aciliyeti hissinin artmasıdır. Bu semptomlar genellikle enfeksiyondan bağımsız olarak ortaya çıkmaktadır (Heidler *et al*. 2007). Sağlıklı kadın ve erkek hastalarda herhangi bir görünür neden ya da uzun vadeli bir etki söz konusu olmaksızın

asemptomatik mikrohematüri görüldüğü de bildirilmektedir (Wollin *et al*. 2009, Tomson and Porter 2002, Madeb *et al*. 2010).

Bakteriüri ve üriner semptomların prevelansı sıklığı göz önünde bulundurulduğunda, idrar yolları enfeksiyonu tanısı almamış bir birey, tesadüfi bir şekilde, hem üriner semptomlara hem de bakteriüriye sahip olabilmektedir. Bu durum, bilhassa tedavi yalnızca semptomların varlığında veya semptomların yanı sıra daldırma çubuğu ile idrar tahlili sonuçlarına dayanıyorsa, aşırı tanıya neden olabilmektedir (Schmiemann *et al*. 2010).

Bu bağlamda yapılan bir araştırmada (Schmiemann *et al*. 2010), idrar yolları enfeksiyonu için çeşitli tanısal algoritmaların duyarlılığı ve özgüllüğü gözden geçirilmiş olup, semptomların ve daldırma çubuğu ile yapılan idrar tahlili sonuçlarının birleştirildiği algoritmaların duyarlılık ve özgüllük açısından büyük farklılıklar gösterdiği ortaya konulmuştur. Söz konusu çalışmada duyarlılık aralığı %65 - %82 olarak tespit edilmişken, özgüllük aralığı ise %53 - %95 olarak tespit edilmiştir.

Yine aynı çalışmada (Schmiemann *et al*. 2010), idrar kültürü için en hassas kriterin 100 cfu/mL idrar örneği kullanılarak idrar semptomlarını, idrarda lökosit ve nitrat tespiti içeren bir algoritma olduğu tespit edilmiştir. Bu algoritmanın duyarlılığı %80,3 ve özgüllüğü ise %53,7 olarak tespit edilmiştir. Başka bir ifade ile belirtmek gerekişe, idrar kültürü pozitif olan hastaların %20'si gözden kaçırılmakta ve negatif idrar kültürü olan hastaların neredeyse %50'si gereksiz yere aşırı tedavi edilmektedir (Schmiemann *et al*. 2010). Buradan yola çıkarak, bakteriüriyi tahmin etmede semptomların düşük duyarlılığı ve düşük özgüllüğü ile birlikte asemptomatik bakteriürinin geçici doğası, karmaşık olmayan idrar yolları enfeksiyonunun kendi kendini sınırlayan doğası ile birleştiğinde, idrar yolları enfeksiyonlarının aşırı teşhis edildiğini ve buna bağlı olarak aşırı tedavi uygulandığını belirtmek mümkündür. Bilhassa, idrar kültürü testinin karmaşık olmayan idrar yolları enfeksiyonunda uygulanmadığını da göz önünde bulundurduğumuzda, aşırı teşhis ve tedavi düşüncesi kuvvetlenmektedir.

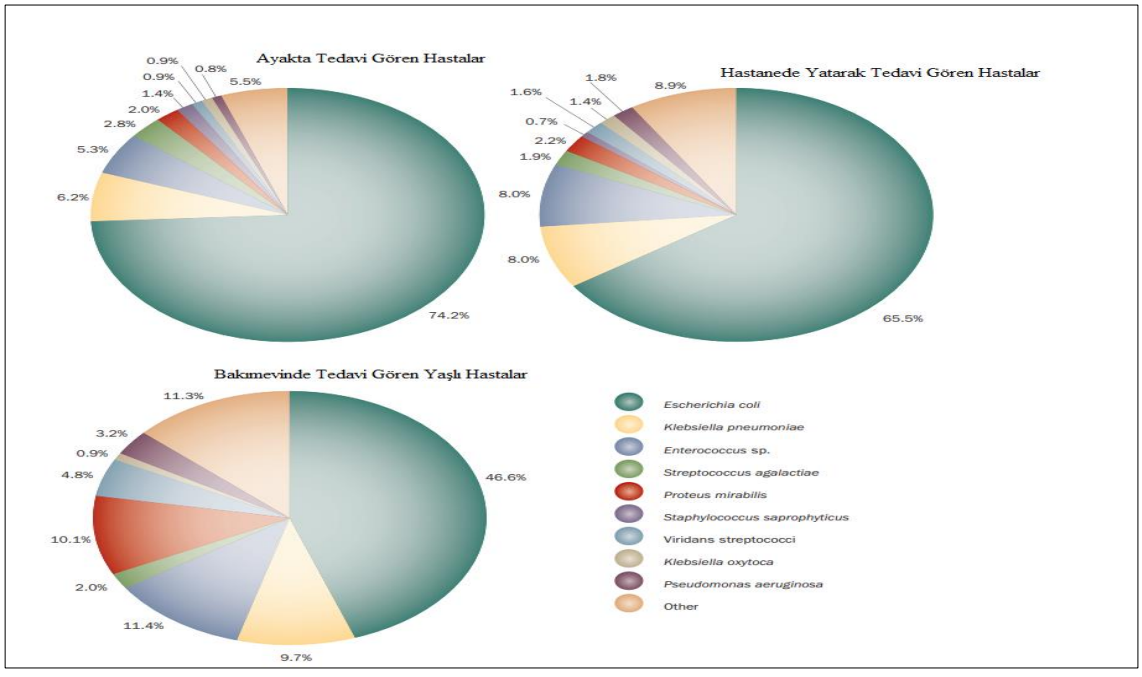
Kateterizasyon kaynaklı idrar yolu enfeksiyonu, en sık görülen hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonu çeşididir. Öyle ki, asemptomatik bakteriüri, günde %5'lik kateterizasyonun ardından önemli bakteriüri insidansı ile herhangi bir süre boyunca kateterize edilen hastaların hemen hemen tamamında görülmektedir (Maki *et al*. 2001) 1000'in üzerinde kateterize hasta üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada (Tambyah and Maki 2000a) bakteriüri olan ve olmayan hastalar arasında ağır, aciliyet, dizüri ve ateş sıklığında önemli bir farklılık görülmediği bildirilmektedir. Buna karşın, ortalama lökosit sayılarının, Kateterizasyon kaynaklı idrar yolları enfeksiyonu tanısı alan hastalar arasında önemli ölçüde daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte piyürinin anlamlı bakteri üri için belirleyici bir duyarlılığa sahip olmadığı da yapılan farklı bir çalışmada bildirilmektedir (Tambyah and Maki 2000b).

2.1.3 Bakteriyoloji

İdrar yolları enfeksiyonunun bakteriyolojisi, yapılan çok sayıda çalışmanın bir sonucu olarak, hayli tahmin edilebilir niteliktedir. İdrar yolları enfeksiyonları çeşitli türdeki bakterilerden kaynaklansa da, genel olarak enfeksiyonların çoğunun gram-negatif, fakültatif anaerobik, üropatojenik bakterilerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bilhassa üropatojenik *E. coli* bilinen tüm vakaların arasında enfeksiyon kaynağı olarak en büyük yüzdelik orana sahiptir. 18 – 39 yaşındaki kadınlarda görülen idrar yolları enfeksiyonlarının kaynağının *E. coli* olduğu bildirilmektedir (Stamm 2002). Üropatojenik *E.coli*, idrar yolunda yaşamaya ve konağın bağışıklık tepkisinden kaçmaya daha iyi adapte olabilmesi açısından, gastointestinal kanalda yaşayan *E. coli* suşlarından farklılık göstermektedir (Stamm 2002).

Üropatojenik *E. coli*, biyofilm oluşumu ve ürotelyal hücre invazyonu mekanizmaları ile idrar yolları enfeksiyonuna yol açmada oldukça etkin ve başarılıdır. *E. coli* suşunun üropatojenik olup olmadığını anlamanın tek yolu suşun idrardan izole edilmesidir. İdrar yolları enfeksiyonlarına neden olan diğer organizamalar arasında Enterobacteriaceae ailesinin üyeleri, streptococci ve staphylococci türleri ve levürler bulunmaktadır (Stamm 2002).

Toplum kaynaklı idrar yolları enfeksiyonu üzerine 2004 – 2005 yılları arasında yapılan oldukça geniş kapsamlı bir çalışmada (Laupland *et al*. 2007), 30581 kişi incelenmiş ve toplam 40618 idrar yolları enfeksiyonu vakası görülmüştür. Bu çalışmaya göre yıllık insidans bin kişi başına 17,5 vaka olarak bildirilmiştir. Söz konusu çalışma kapsamında, hastaların %74'ü ayakta tedavi edilmiş, %18'i hastanede tedavi edilmiştir. Hastaların %9'unun ise çalışmanın gerçekleştirildiği bölgedeki huzurevi sakinlerinden oluştuğu bildirilmiştir. Söz konusu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, kültür bazlı yöntemlerle tüm gruplarda en sık görülen bakteri izolatının *E. coli* olduğu görülmektedir. Ayakta tedavi gören hastaların %74,2'sinde, hastanede yatarak tedavi gören hastaların ise %65,5'inde idrar yolları enfeksiyonunun nedeni *E. coli* bakterisi olarak saptanmıştır (Şekil 2.2) (Laupland *et al*. 2007). Ayakta tedavi gören hastalar arasında *Klebsiella Pneumoniae* kaynaklı enfeksiyon oranı %6,2 olarak tespit edilmiştir. Geniş kapsamlı bir çalışma olması nedeniyle, idrar yolları enfeksiyonunun kaynağı bakteriler hakkında detaylı bilgiler içeren bu çalışmadan elde edilen istatistiksel sonuçları aşağıda grafik şeklinde gösterilmektedir:



Şekil 2.2 Popülasyona göre idrar yolu enfeksiyonu bakteriyolojisindeki değişim (Laupland *et al*. 2007)

İdrar yolları enfeksiyonlarına yol açan bakterileri türlerinin tespitinde PCR yönteminden yararlanılmaktadır. PCR yöntemi ile standart klinik mikrobiyoloji yöntemleri kullanılarak görülemeyen bakteri türleri tespit edilebilmektedir (İmirzalıoğlu vd. 2008). Yapılan bir çalışmada (İmirzalıoğlu vd. 2008), yaklaşık 1500 hasta incelenmiş ve hastalardan elde edilen numuneler hem idrar kültürü testi hem de PCR tekniği ile taranmıştır. Bu örneklerden 125'i kültür pozitif ve PCR pozitif iken, 37'si kültür negatif ancak PCR pozitif olarak tespit edilmiştir. PCR yöntemi ile tespit edilen idrar yolu enfeksiyonu kaynağı bakterilerin çoğunluğunun *E. coli* türü bakteriler olduğu görülmüştür (İmirzalıoğlu vd. 2008).

2.1.4 Bulaşma

İdrar yolları enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* ve diğer Enterobacteriaceae türlerinin normalde gastrointestinal sistemi kolonize etmesinden dolayı, idrar yolları enfeksiyonunun, bağırsak bakterilerinin idrar yoluna bir şekilde bulaşmasından kaynaklandığı varsayılmaktadır. Bununla birlikte, sağlıklı bireylerde idrar yoluna giren bağırsak bakterilerinin hızlı bir şekilde vücuttan atıldığı da bilinmektedir. Üriner sistem enfeksiyonlarıyla en sık ilişkilendirilen üropatojenler olan üropatojenik *E. coli*, idrar yoluna uyarlanmış bir bakteridir ve bu ortamda kolanizasyonunu başlatıp, sürdürerek idrarda 100.000 cfu/mL değerini aşabilecek özelleştirilmiş niteliklere sahiptir. Aynı şekilde, üropatojenlerin vajinal boşluktan ve gastointestinal sistemden mesaneye doğru ters yönlü hareketi de idrar yolları enfeksiyonuna yol açabilmektedir. İdrarda bakteri yoğunluğunun büyük sayılara ulaşabileceği göz önünde bulundurulduğunda, idrara çıkma sırasında ellerin de kontamine olabileceği değerlendirilmektedir. Bu da yakın aktivite sırasında üropatojenik bakterilerin partnere aktarılmasına neden olabilmektedir. Ayrıca, üropatojenik bakteriler yiyecek ve su yoluyla da dolaylı olarak taşınabilmektedir. Bununla birlikte, üropatojenik bakteriler cinsel aktivite esnasında da bulaşma göstererek idrar yolu enfeksiyonu oluşumuna yol açabilmektedir (Foxman 2010).

İdrar yolları enfeksiyonları uzun bir süredir cinsel aktivite ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, karmaşık olmayan idrar yolları enfeksiyonuna balayı sistiti de denmektedir.

Tıbbi ve epidemiyolojik kanıtlar bu yaklaşımı doğrular niteliktedir. Cinsel yolla bulaşmaya ilişkin çeşitli tıbbi vaka raporları da bulunmaktadır (Al-Wali *et al*. 1989, Bailey *et al*. 1986). Genel nüfusa bakıldığında, idrar yolları enfeksiyonlarının sıklıkla 18 – 29 yaş aralığındaki kadınlarda bulaşma yoluyla gerçekleştiği görülmektedir. Bununla birlikte, sık vajinal cinsel ilişki bu yaş grubu için önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (Foxman *et al*. 2000). Üropatojenik bakterilerin neden olduğu idrar yolları enfeksiyonu tanısı konmuş hastalarda, cinsel partnerinde de üretral veya rektal patojenin bulunma sıklığı gastrointestinal suşlardan izole edilen *E. coli* suşunun yaklaşık iki katı yoğunlukta bulunmaktadır (Foxman *et al*. 2002a). Bu verilerden yola çıkarak, yüksek cinsel ilişki sıklığının üropatojenik bakterilerin cinsel yolla bulaştığını belirtmek mümkündür.

Üropatojenik bakterilerin cinsel yolla bulaşması, idrar yolları enfeksiyonunun bir salgın olarak değerlendirilmesine yönelik görüşleri desteklemektedir. Bir başka ifade ile, belirli bir zaman diliminde belirli bir coğrafi bölgede öngörülenden daha fazla idrar yolları enfeksiyonu vakası ile karşılaşmak mümkündür. Üropatojenik bakteriler, arka planda görülme sıklığı yüksek, çok büyük ve heterojen yapılı bir organizma grubudur. Dolayısıyla, idrar yolları enfeksiyonu salgınlarını tanımlamak, teşhis etmek ve izlemek de zorlaşmaktadır. Bununla birlikte, olağandışı antibiyotik direnç profilleri, salgınlar için yararlı belirteçler sağlamaktadır. Örneğin, 1980'li yılların sonunda İngiltere'de görülen bir salgın yüksek derecede antibiyotik direncine sahip *E.coli* serotipi O15 suşu ile ilişkilendirilmiştir (O'Neill *et al*. 1990). 2000'li yılların başından itibaren ise, *E. coli* nin genişletilmiş spektrumlu β laktamaz üreten suşu, Dizi Tipi (Sequence Type / ST) 131, CTX-M tipi β-laktamaz enzimi tarafından sağlanan direnç ile toplum kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının başlıca kaynağı olarak tanımlanmaktadır (Peirano *et al*. 2010). ST, çok odaklı dizi tiplemesi olarak bilinen dizileme tabanlı bir moleküler tipleme yöntemi kullanılarak belirlenmektedir. 2004 ve 2006 yılları arasında Yeni Zelanda ve Hindistan'da CTX-M medyatörlü yüksek dirençli *E. coli* suşları oldukça fazla sayıda idrar yolları enfeksiyonu hastalığına neden olmuştur (Pitout 2010).

İdrar yolları enfeksiyonlarının farklı coğrafyalarda yoğun şekilde görülmesi, hastalığın seyahat sırasında kişisel temas yoluyla, yiyecek ve su yoluyla da bulaşabileceği

yönündeki görüşleri desteklemektedir. İdrar yolları enfeksiyonlarının gıda yolu ile bulaşabileceğini değerlendiren çalışmalar az sayıda da olsa mevcuttur (Vincent *et al*. 2010).

Olağandışı antibiyotik direnç profilleri ile tanımlanan hastane kaynaklı idrar yolları enfeksiyonları salgınları da gözlenmektedir. Bu tür salgınların çoğu, bakteri suşlarının hastane personelinin ellerinden hastalara bulaşmasından dolayı ortaya çıkmaktadır (Schaberg *et al*. 1976).

Üropatojenik bakterilerin bulaşma döngüsü, temas yoluyla yayılmayı kesintiye uğratan uygun hijyen tedbirlerinin alınması ve kalıcı üriner kateteri olan hastaların idrarı olan patojen rezervuarlarının azaltılması ile kırılabilmektedir. Sporadik nozokomiyal idrar yolları enfeksiyonlarının birincil kaynağının kateterizayon işlemi olduğu kabul edilebilmekle birlikte cerrahi ve tıbbi bakım sırasında ürogenital manipülasyon da bulaşma riskini artırmaktadır (Huang *et al*. 2004). Kateterle ilgili iki idrar yolları enfeksiyonu kaynağı söz konusudur. Bunlar, hastanın perineal veya rektal mikrobiyotasında bulunan bakteriler ve aleti yerleştiren veya manipüle eden sağlık personelinin ellerinde bulunan bakterilerdir. Bu nedenle, iyi hijyen uygulamaları ve tedbirleri, kataterlerin olabildiğince çabuk çıkarılması gibi önlemler kateterle ilişki bulaş riskini azaltmaktadır (Hooton *et al*. 2010, Huang *et al*. 2004).

2.1.5 Yaygınlık, görülme sıklığı

Bakteriüri yayınlığı (prevelansı) daha ziyade gençlerde sıklıkla görülmektedir. Hem erkek hem de kadınlarda yaşla birlikte kademeli bir artış görülmektedir. 60 yaş ve üstüne kadar kadınlarda, erkeklere göre daha sık görülmektedir (Johnson 1991). Semptomatik enfeksiyon dağılımı daha farklı seyretmektedir. 15 – 29 yaş arası kadınlarda en yüksek sıklık görülmektedir ki bu oran tüm vakalar içinde yaklaşık %20'ye karşılık gelmektedir. (Foxman 2003). 18 yaş üstü kadınlar arasında tahmini insidans, yaklaşık %13 erkeklerde ise %3 olarak tahmin edilmektedir (Johnson 1991). Bu yüzdelik oranların laboratuvar sürveyans verileri kullanılarak elde edilen insidans tahminlerinden daha yüksek olduğu

değerlendirilmektedir. Öyle ki yukarıda bahsedilen oldukça geniş kapsamlı bir çalışmada (Laupland *et al*. 2007), genel popülasyonda yıllık insidans %1,75 olarak belirtilmektedir. Bu bağlamda çoğu alt idrar yolları enfeksiyonunun, kültür bulgularının yararı olmadan, ampirik olarak tedavisi gerçekleştiği ve tahminlerdeki farklılıkların büyük olasılıkla doktor teşhisi yerine bahsedilen çalışmada (Laupland *et al*. 2007) idrar kültürü kullanımından kaynaklandığını belirtmek mümkündür.

Dünya genelinde her yıl milyonlarca hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonu vakası meydana gelmektedir ve toplam vakaların yaklaşık %80'i Kateterizasyon kaynaklıdır. Kateterizasyon kaynaklı idrar yolu enfeksiyonları, hastane kaynaklı bütün enfeksiyonların %40'ını oluşturmaktadır (Tambyah and Maki 2000a). Kateterin çıkarılmasını takiben, semptomatik idrar yolu enfeksiyonu riski de yükselmektedir (Tang *et al*. 2005).

2.1.6 Morbidite

Alt üriner sistem enfeksiyonları hızlı bir şekilde iyileşmektedir. Birinci basamak sağlık merkezlerinde tedavi edilen, kültürle doğrulanmış idrar yolu enfeksiyonu tanısı alan, hamile olmayan 511 yetişkin kadın üzerinde yapılan bir çalışmada (Little *et al*. 2010), ortalama idrar sıklığı süresi 3,46 gün, hematüri için 1,88 gün ve aciliyet için 3,06 gün olarak tespit edilmiştir. Antibiyotik direnci geliştiren organizmanın neden olduğu bir idrar yolu enfeksiyonu görülen hastalarda veya tedavi edilmeyen hastalarda ortalama semptom sürelerinin 1 – 2 gün daha uzun olduğu gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık kaydedilmemiştir (Little *et al*. 2010). Ayrıca, piyelonefrite ilerleyen sistit riski düşüktür ve riskler, antibiyotiklerle tedavi edilenler ve edilmeyenler arasında benzerlik göstermektedir (Little *et al*. 2010).

İdrar yolu enfeksiyonlarının düşük morbitie oranına karşın, hastalığın yaygın bir şekilde görülmesi, sağlık bakım maliyetlerinin hayli yükselmesine neden olmaktadır. İdrar yolları enfeksiyonları nedeniyle yapılan sağlık harcamaları her yıl Dünya genelinde milyar dolarlara ulaşmaktadır. Öyle ki 2010 yılı için yalnızca Amerika Birleşik Devletleri'nde

idrar yolları enfeksiyonu nedeniyle yapılan tıbbi harcamalar toplamı 2,3 milyar dolara karşılık gelmektedir (Foxman *et al*. 2000, Saint 2000).

İdrar yolları enfeksiyonlarının tekrar nüksetme ihtimali yüksektir. İlk defa idrar yolu enfeksiyonu tanısı alan ve iyileşen kadınlar arasında yapılan bir çalışmada iyileşmeyi takip eden ilk 6 ay içerisinde hastalığın tekrar nüksetme ihtimali %24 olarak bulunmuştur. (Foxman *et al*. 2000). Bir veya daha fazla idrar yolu enfeksiyonu geçiren kadınlarda, bir yıl içerisinde hastalığın nüksetme ihtimali %70 olarak belirtilmektedir (Hooton *et al*. 1996).

Bazı nüksetme vakaları, üropatojenik bakterilerin adaptif immün tepkileri indüklemesine rağmen, üropatojenik bakterilerin hücre içi bakteri toplulukları oluşturarak (Rosen *et al*. 2007) veya vajinal boşlukta ya da gastrointestinal sistemde bir rezervuarı koruyarak bağışıklık sisteminden kaçma kabiliyetine bağlı olarak gelişebilmektedir (Weichhart *et al*. 2008, Song and Abraham 2008). Bununla birlikte konakçı, eğer bağışıklık kazanabiliyorsa, ilk idrar yolu enfeksiyonundan sonra kadınların %5'inin en az bir yılda üç ya da daha fazla nüksetme olayı ile karşı karşıya kaldığı dikkat çeken bir tıbbi durumdur. Bu yüksek riskli gruplarda, üropatojenik bakterilerden kaynaklı vakaların oranı %66'ya kadar erişse de, farklı üropatojenik bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonlar bu durumun açıklaması olarak değerlendirilebilmektedir (Stamm *et al*. 1991). Bununla birlikte insan genetik varyasyonları, özellikle de bağışıklık tepkisini etkileyen genetik varyasyonlar, tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu riskindeki artış ile ilişkilendirilmektedir (Hawn *et al*. 2009a, Lundstedt *et al*. 2007, Hawn *et al*. 2009b, Sheinfeld *et al*. 1989).

2.1.7 İdrar yolları enfeksiyonlarında antibiyotik direnci

Kısa süreli antibiyotik kullanımı dahi vajinal boşluğun ve gastrointestinal sistemin mikrobiyal topluluğunu derinden etkileyebilmektedir (Tempera *et al*. 2009, Dethlefsen *et al*. 2008). Örneğin, vajinal mantar enfeksiyonları, idrar yolları enfeksiyonu nedeniyle kullanılan antibiyotiklerin sonucunda oluşan dirence bağlı olarak gelişebilmektedir

(Kurtaran *et al*. 2010). Yapılan bir çalışmada beş günlük siprofloksasin kürünün, bir önceki yıl antibiyotik kullanmamış sağlıklı kişilerin bağırsak mikrobiyoatalarında taksonların kaybolduğu ve yaklaşık altı ay boyunca da görülmediği belirtilmiştir (Dethlefsen *et al*. 2008). Orta kulak iltihabından sonra en yaygın antibiyotik tedavisi uygulanan idrar yolları enfeksiyonda antibiyotik uygulanmasının normal mikrobiyota üzerinde oldukça büyük etkileri vardır. Bu mikrobiyal toplulukta bulunan taksonlar üzerindeki etkileri göz ardı edilse dahi, antibiyotik kullanımı dirençli patojenler ve komensal organizmalar için seçici bir mekanizma oluşmasına neden olur. Daha önceki antibiyotik kullanımları, idrar yolları enfeksiyonlarının antibiyotikle tedavi edilmesi önünde oldukça büyük bir engel ve antibiyotik direnci içinde oldukça önemli bir temel teşkil etmektedir (Kurtaran *et al*. 2010, Colodner *et al*. 2008).

Antibiyotik direnci, başlangıçta bir bakteriye bir uyum değeri yüklemektedir. Bu uyum değeri, daha yavaş bir büyüme hızı gibi bir biyolojik nitelik olabilmektedir. Bu durum, dirençli bakterilerin, seçilen antibiyotik ortamından çıkarıldıktan sonra dirençlerinin kırılarak, duyarlılıklarının arttığını göstermektedir. Yapılan farklı çalışmalar (Sundqvist *et al.* 2010), bu geri dönüşün nadiren gerçekleştirdiğini öne sürmektedir. Bakteriler, direnç tarafından empoze edilen herhangi bir uyum değerini telafi etmek için mekanizmalarını hızla geliştirmektedir. Başka bir ifade ile belirmek gerekişe, bakteri izolatlarındaki antibiyotiğe karşı direnç kaybolmamaktadır (Sundqvist *et al.* 2010). Ayrıca belirmek gerekir ki, yatay gen transferi yoluyla birçok antibiyotik direnç mekanizması elde edildiğinden dolayı bir bakteri aynı anda birden fazla antibiyotiğe direnç kazanabilmektedir. Üstelik bu durum farklı sınıf ve türdeki antibiyotikler için geçerlidir. Bu nedenle bir antibiyotik kullanmak diğer antibiyotiklere yönelik direncin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Ayrıca, bazı direnç mekanizmaları birden fazla antibiyotik sınıfına karşı direnç sağlayabilmektedir (Sundqvist *et al.* 2010)

Ampisilin, trimetroprim ve siprofloksasin gibi antibiyotiklere yönelik direncin görülme sıklığı coğrafi bölgelere göre de farklılık göstermektedir (Shito *et al.* 2009). Ayrıca, penisilinlere, üçüncü nesil sefalosporinlere ve monobaktamlara karşı direnç sağlayan geniş sepktrumlu β-laktamaz enzimlerine sahip *E. coli* suşlarının toplum kaynaklı idrar

yolu enfeksiyonu olan hastalarda ortaya çıkması da sorunlu bir sürece işaret etmektedir (DeBusscher *et al.* 2009, Doi *et al*. 2007, Azap *et al*. 2010).

2.2 İdrar Yolları Enfeksiyonlarında *Klebsıella Pneumonıea*

Klebsiella Pneumoniae (*K. pneumoniae*), Klebsiella türü bakteriler arasında en sık görülen insan patojenidir. *K. pneumoniae*, akciğer, idrar yolu, karın boşluğu, cerrahi müdahaleye maruz kalan vücut bölgeleri, yumuşak doku enfeksiyonları ve hatta bakteriyemi de dahil olmak üzere çok sayıda enfeksiyona neden olmaktadır. Bununla birlikte, *K. pneumoniae* hastane kaynaklı enfeksiyonlara en sık neden olan bakteridir (Mody and Mehta 2014, Shon *et al*. 2013). Bu kapsüle olmuş gram negatif bakteri, ağız, deri ve bağırsağın normal florasında bulunmaktadır. *K. pneumoniae*, sepsis hastalarından alınan kan kültürlerinde en sık izole eden mikroorganizmalar arasında yer almaktadır (Li *et al*. 2014). *K. pneumoniae nin* çeşitli varyantları tanımlanmaktadır. Günümüzde en büyük halk sağlığı problemlerinden biri olarak kabul edilen ve piyojenik karaciğer apseleri, endoftalmi ve menenjit de dahil olmak üzere ciddi ve hayati tehlike yaratan enfeksiyonlara yol açan yeni bir hipervirülan varyantı tanımlanmıştır. Bu hipermükoviköz *K. pneumoniae* varyantı çok sayıda olumsuz sonuca yol açan enfeksiyonlara kaynaklık etmektedir (Shon *et al*. 2013, Struve *et al*. 2015, Zhan *et al*. 2017).

Hastanede yatan, bağışıklık sistemi baskılanmış ve altta yatan önemli hastalıkları olan hastalar, bu patojenik bakterinin ana hedefleridir (Mody and Mehta 2014). *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının patogenezinde yer alan altta yatan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak bildiği üzere, endositoz düzenleyici protein Kaveolin-1, *K. pneumoniae* kaynaklı idrar yolları enfeksiyonlarında inflamatuar yanıtlarda rol oynamaktadır. İmmünoreseptör tirozin bazlı aktivasyon motiflerinde tirozinlerin fosforilasyonu yoluyla, FcyR aracığıyla monosit ile ilişkili fagositoza dahil olan Src tirozin kinaz Lyn, lipid raftlarını koordine edebilmekte ve Kaveolin-1'in hücresel fonksiyonunu etkileyebilmektedir. Lyn, lipid sallarının yakınında bulunmakta ve hücresel sinyalleri iletmek için aktive edilmiş zar alanlarına yer değiştirebilmektedir. Böylece

fagositoz süreçlerini düzenleyerek ve inflamatuar tepkileri azaltarak *K. Pneumoniae* 'ye karşı konak savunmasında rol oynamaktadır (Li *et al.* 2014, Guo *et al*. 2012). *K. pneumoniae* ile enfekte olmuş fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, Lyn eksikliğinin, IL-6, TNF-α gibi sitokin tepkilerini hızlandırabildiği ve yoğunlaştırabildiği gözlemlenmiştir. Lyn, lipid raftları ile koordineli bir şekilde çalışarak, p38 / NFκB yolağı aracılığıyla *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında inflamatuar yanıtlar düzenlemektedir (Li *et al*. 2014).

İdrar yolları enfeksiyonlarında *K. pneumoniae* nin moleküler mekanizmalarına değindikten sonra, bu bakterinin idrar yolları enfeksiyonuna neden olmasına dair epidemiyolojik bilgilere ve tedavi yöntemlerine değinmek de yerinde olacaktır. Bildiği üzere, idrar yolları enfeksiyonu, mevcut uygulamada, konsültasyon ve antibiyotik reçetesi için yaygın bir neden olarak karşımıza çıkmaktadır (Daza *et al*. 2001, Schito *et al.* 2009). İdrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde aşırı ve / veya uygunsuz antibiyotik kullanımı, çoklu ilaca dirençli idrar yolu bakterilerinin ortaya çıkması ve yayılmasından sorumludur. Çoklu ilaca dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının neden olduğu idrar yolları enfeksiyonları, birçok antimikrobiyal ajanın etkinliği sınırlandırıldığı ve bu nedenle terapötik seçenekleri önemli ölçüde azalttığı ve uygun bir antimikrobiyal tedavinin sağlanmasını daha zor hale getirdiği için önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ayrıca tedavisi zor olan idrar yolu enfeksiyonlarından çoklu ilaca dirençli bakteriler sorumludur ve bu da tıbbi maliyetleri, mortalite ve morbidite oranlarını artırmaktadır (Pitout *et al.* 1997).

İdrar yolları gibi ciddi enfeksiyonları olan hastalarda, ilaca dirençli patojenlerin gelişimi genellikle antimikrobiyal ajanların yaygın kullanımına ve enfeksiyon önleme ve kontrol programlarının sınırlı mevcudiyetine bağlanmıştır. Sonuç olarak, günümüzde neredeyse tüm antibiyotiklere dirençli olan bakteriyel patojenlerle enfekte olmuş bireylerle karşılaşmak giderek daha yaygın hale gelmektedir. Sağlık hizmetleri ortamında özellikle endişe verici olan, Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz (ESBL) üreten *K. pneumoniae* dahil dirençli gram negatif patojenlerin ortaya çıkmasıdır. Antibiyotik direnci daha önce esas olarak nozokomiyal idrar yolları enfeksiyonlarında teşhis

edilirken, günümüzde toplum kaynaklı edinilen idrar yolları enfeksiyonlarında da sıklıkla gözlenmektedir (Daza *et al*. 2001, Schito *et al*. 2009).

Küresel çapta, idrar yollarındaki *K. pneumoniae* nin yaygın olarak kullanılan oral ve parenteral antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı hızla artmakta ve bununla birlikte zamansal ve bölgesel olarak büyük farklılıklar göstermektedir (Perez *et al*. 2007). Ampirik antibiyotik tedavisi, coğrafi olarak güncellenen ve uyarlanan epidemiyolojik verilere dayanmaktadır (Bader *et al*. 2010). Bu nedenle sağlık kurumlarının, uygun enfeksiyon kontrol önlemlerini hayata geçirmesi ve antibiyotik kullanımına yönelik yerel önerilerle akılcı bir antibiyotik kullanım politikası geliştirmek için her bölgenin yerel antibiyotik direnç modellerini bilmesi büyük önem taşımaktadır. Sağlık kurumları tarafından edinilen sürveyans bilgileri, ayrıca alınan önlemlerin etkinliğini değerlendirmek ve bakteri direncini kontrol etmek için yeni referans noktalarının belirlenmesi için kullanılmalıdır. *K. pneumoniae* ve diğer bakterilerin dirençlerine yönelik sürveyans çalışmaları, antibiyotik dirençli bakterilerin yayılmasını kontrol etmek açısından en önemli tedbirlerden biri olarak değerlendirilebilmektedir. Bu nedenle, bölgesel çalışmaların amacı, *K. pneumoniae*'ye bağlı idrar yolları enfeksiyonu vakalarının tedavisinde antimikrobiyal ajanların rasyonel kullanımına yönelik bir planın geliştirilmesinde bilimsel topluluğa yardımcı olabilecek değerli veriler eklemek olabilmektedir (Perez *et al*. 2007, Bader *et al*. 2010, Daza *et al*. 2001, Schito *et al*. 2009).

2.3 İdrar Yolları Enfeksiyonlarında *Escherichia coli*

Günümüzde, en yaygın teşhis edilen bakteriyel enfeksiyon türü olan idrar yolları enfeksiyonlarına neden olan bakteri türleri; *Staphylococcus saprophyticus, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae* ve tüm vakaların %85'inden fazlasının sorumlusu olan *Escherichia coli* dir (Foxman 2002b, Bergeron *et al*. 2012).

Üriner sistem, *Escherichia coli* ve diğer mikrobik istilacı türleri uzak tutmak ve temizlemek üzere mükemmel bir şekilde gelişmiştir. İdrar yaparken, üretrada kalan bakteriler, idrar tarafından temizlenerek dışarı atılmaktadır (Flores-Mireles *et al*. 2015).

Ancak bu savunma mekanizmasında meydana gelen herhangi bir aksaklıkta, *Escherichia coli* gibi bakteriler, idrar yollarından girerek, böbrekler, üreterler, mesane ve üretra gibi üriner sistem unsurlarını istila eder, çoğalır ve idrar yolu enfeksiyonu gelişimine neden olur (Mayoclinic 2020). İdrar yolunun herhangi bir kısmı enfeksiyondan etkilenebilir ancak *Escherichia coli* kaynaklı çoğu idrar yolu enfeksiyonu, mesane ve üretra dahil olmak üzere alt idrar yolunda meydana gelir. *Escherichia coli*, mesanede sistit, üretrada üretrit oluşumuna neden olmaktadır (Mayoclinic 2020).

Escherichia coli, gastrointestinal sistemde doğal olarak bulunmakta ve insana herhangi bir zarar vermemektedir. Ancak bazı *Escherichia coli* ler patojeniktir ve hastalığa yol açabilmektedir. İdrar Yolu Enfeksiyonlarına neden olan *Escherichia coli*, kısmen dışkıdan meydana gelen eser miktarda bulaşma ile idrar yoluna girebilir ve burada çoğalabilir (Braumbaugh *et al*. 2012). Kadınların idrar yolu enfeksiyonlarına daha yatkın olmasının nedenlerinden biri de çok kısa üretralara sahip olmalarıdır. Rektumdaki *Escherichia coli* bakterisinin, üretraya ulaşmak için uzun bir yolu yoktur ve daha sonra bir enfeksiyona neden olmak için mesaneye daha kolay erişebilmektedir (Mayoclinic 2020).

İdrar yollarına *Escherichia coli* bakterisi şu şekilde bulaşabilmektedir:

- ✓ Cinsel Temas: Bir kadının üretrası, vajina ve anüs arasında yer almaktadır. Bundan dolayı, bakterilerin cinsel ilişki veya cinsel temas sırasında idrar yoluna girmesi oldukça kolaydır.
- ✓ Hatalı Temizlenme: Kadınlarda, bağırsak hareketinden sonra, arkadan önde doğru silme hareketi, *Escherichia coli*'yi doğrudan üretra içerisine sürükleyebilmektedir. Bu nedenle, temizlenmenin önden arkaya doğru yapılması tavsiye edilmektedir.
- ✓ İdrar Tutma: İdrar hissiyatı oluştuğunda beklemeksizin tuvalete çıkmak, vücudun *Escherichia coli* gibi bakterileri üriner sistemden temizlemesine devamını sağlamaktadır. Bu, bilhassa ilişkiden önce ve sonra önemlidir. Sık idrara çıkmak için kişilerin bol su tüketimi önerilmektedir (Mayoclinic 2020).

- ✓ Yukarıda sayılanlara ek olarak, *Escherichia coli* kaynaklı idrar yolları oluşumuna neden olan diğer ikincil faktörler de söz konusudur. Bu faktörler aşağıdaki şekilde sıralanabilmektedir:
- ✓ Menopoz: Östrojen hormonunun idrar yolu enfeksiyonlarına karşı korunmaya yardımcı olduğu düşünülmektedir. Menopoz sırasında östrojen düşüktür ve menopozdaki kadınları idrar yolları enfeksiyonlarına daha duyarlı olduğu bilinmektedir (Mayoclinic 2020).
- ✓ Doğum Kontrolü: Diyafram ya da sperm öldürücü etkili prezervatif kullanımı, *Escherichia coli* kaynaklı idrar yolları enfeksiyon riskini artırmaktadır. Birincisi, üretrayı itmekte ve mesanenin tamamen boşalmasını zorlaştırmaktadır. İkincisi ise idrar yolları enfeksiyonlarından korunma sağlayan iyi bakterileri öldürebilmektedir (Rana and Dasgupta 2013).
- ✓ Diyabet: Kan şekeri yüksek olan kimseler, bakteriler ve diğer mikrobiyal organizmalarla etkin bir şekilde savaşamazlar. Bu durum da kişileri İdrar yolları enfeksiyonlarına daha yatkın hale getirmektedir (Rana and Dasgupta 2013).
- ✓ Gebelik: Gebeliğin 6. haftasından 24. haftasına kadar gerçekleşen hormonal değişiklikler, *Escherichia Coli* gibi bakterilerin idrar yollarına girmesini kolaylaştırmaktadır. Ek olarak, büyüyen bir rahim, mesaneye baskı uygulayarak, mesanenin tamamen boşaltılmasını zorlaştırmaktadır (Cunningham *et al*. 2001).
- ✓ Prostat Bezinin Büyümesi: Bu durumda prostat bezi, mesaneye ekstra basınç uygulayarak, mesanenin düzgün bir şekilde boşalmasını ve üriner sistemin *Escherichia Coli* yi düzgün bir şekilde temizlemesini engellemektedir. (Mayoclinic 2020).
- ✓ Omurilik Yaralanmaları: Bu tür sinir hasarları, bireylerin mesanelerini tamamen boşaltma kabiliyeti önünde engel oluşturmaktadır. Bu nedenle, omurilik yaralanmaları neticesinde, *Escherichia coli* bakterileri kolaylıkla çoğalabilmektedir (Mayoclinic 2020).
- ✓ Böbrek Taşları: Böbrek taşları idrar yollarını tıkayarak idrarı mesaneye hapsedebilmektedir. Dolayısıyla idrar yolları enfeksiyonlarının oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Mayoclinic 2020).

Antibiyotikler, idrar yolları için birinci basamak tedavi olması nedeniyle *Escherichia coli* kaynaklı idrar yolları enfeksiyonlarının tedavisinde de sıklıkla kullanılır. Ancak, bundan dolayı, ancak genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) *Escherichia coli* olarak adlandırılan bazı *Escherichia coli* türleri, ampisilin ve tetrasiklin dahil olmak üzere bu ilaçların çoğuna daha dirençli hale gelmektedir. İdrar yolları enfeksiyonu tedavisinde antibiyotik tedavisinin bu denli sık kullanılmasının neticesinde, günümüzde, ESBL *Escherichia coli*, idrar yolları enfeksiyonlarına her zamankinden daha fazla neden olmaktadır (Sanchez *et al.* 2012).

2000 – 2012 yılları arasında görülen idrar yolları enfeksiyonlarının incelendiği bir çalışmada, araştırmacılar, Trimetoprim-sülfametoksazole veya TMP-SMX'e (Bactrim, Sulfatrim) dirençli *Escherichia coli* oranının %17,9'dan %24,2'ye yükseldiğini ve ayrıca siprofloksasine (Cetraxal, Ciloxan, Cipro) dirençli *Escherichia coli* 'nin neden olduğu idrar yolları enfeksiyonu vakalarının tüm vakaların yüzde %3'ünden yüzde %17,1'ine yükseldiğini ortaya koymuşlardır (Sanchez *et al*. 2012).

ESBL *Escherichia coli* kaynaklı idrar yolları enfeksiyonunda en fazla risk altında bulunan kişiler, idrar sondası taşıyanları, tekrar nükseden idrar yolları enfeksiyonu tanısı almış olan kişiler ve yakın zamanda antibiyotik tedavisi gören kimselerdir (Goyal *et al*. 2017). Belirtmek gerekir ki, ESBL *Escherichia coli* kaynaklı enfeksiyonların tedavisi daha zor olmakla birlikte, bu enfeksiyonlara yakalanan hastalar ayrıca, sepsis adı verilen ve potansiyel bir yaşamsal tehlike arz eden bir enfeksiyon komplikasyonu için yüksek bir risk altındadırlar (Goyal *et al*. 2017).

ESBL *Escherichia coli*, birçok antibiyotiği parçalayarak etkisiz hale getirebilirken, karbapenem adı verilen belirli bir antibiyotik sınıfı için bu durum geçerli değildir. Bunlar, ciddi ve invazif ESBL enfeksiyonları için altın standart tedavi olarak kabul edilmektedir (Bush and Jacoby 2010). Bu ilacın farklı formları şu Şekilde sıralanabilmektedir:

- ✓ Imipenem (Primaxin IV).
- ✓ Meropenem (Merrem).
- ✓ Doripenem (Doribax).

- ✓ Ertapenem (Invanz).

2.4 İntegronlar

Integronlar, genellikle dirençli genetik faktörler taşıyan ve gen kaset birimlerine gömülü açık okuma çerçevelerini (ORF'ler) edinme ve yeniden düzenleme ve bunları doğru ifadeyi sağlayarak fonksiyonel genlere dönüştürme yeteneğine sahip olan genetik elementler veya bakteriyel plazmidlerdir (Cambray *et al*. 2010, Michael and Labbate 2010). Başlangıçta Gram-negatif bakteriler tarafından antibiyotik direnç genlerini toplamak ve transpozonlarla sinerji içinde çoklu direnç fenotipleri ifade etmek için kullanılan bir mekanizma olarak tanımlanmaktadır (Michael and Labbate 2010). Son zamanlarda, Integrons'un rolü, yüzlerce bakterinin genomlarında entegre kromozom yapılarının (CI) keşfedilmesiyle genişletilmiştir (Cambray *et al*. 2010).

Integronların genleri 1989'da (Stokes ve Hall) tarafından keşfedildi ve gen şeritleme, ekstraksiyon ve ardından direnç genlerinin edinilmesinden sorumlu genetik yapılar olarak tanımlanmıştır. Integronlar, bir gen şeridinin rekombinasyon bölgesini kullanabildikleri için diğer tüm genetik elementlerden farklıdır (Collis *et al*. 1992).

Gen kasetleri küçük, çift sarmallı hareketli genetik elementlerdir. Bir direnç geni kaseti, bir direnç geni ve attC olarak adlandırılan bir rekombinasyon bölgesinden oluşur. Bu site boyut olarak değişebilir ve gen kasetlerinin entegrasyonunu ve eksizyonunu katalize eden integraz için bağlanma bölgelerini içermektedir. Eksizyondan sonra ve entegrasyondan önce gen kasetleri bir ara dairesel form oluşturur. AttC yerleri genellikle merkezi bir simetri eksenine sahiptir ve kusurlu bir şekilde ters çevrilmiş tekrarları temsil eder. Bir gen kasetinin genellikle kendi promotörü yoktur, ancak kaset kaynaklı geni, integronun 5 'korunmuş segmentinde yer alan bir promotörden kopyalanmaktadır. Sınıf 1 ve 2 integronları genel olarak iki korunmuş segmentten (CS), 5'CS ve 3'-CS'den oluşur ve bunlar bir veya daha fazla gen kaseti içerebilen değişken bir bölgeyi parantez içine alır (Özgen 2007). Integrons, iki spesifik elemente sahiptir (intI ve attI), bu iki element, integronlardaki üçüncü element olan (gen kaseti), anti ve spesifik bir rekombinasyon

katalizör sahası tarafından oluşturulan, genin (int I) belirli genlerin yerinde ve içerdiği genlerin kurucu yeri veya rekombinasyon bölgesi olan (attl) bölgesinde ısırılmaktadır (Michael and Labbate 2010, Gillings *et al*. 2008).

2.5 Antibiyotik Direnci

Enfeksiyonların tedavisine yönelik olarak antimikrobiyal bileşiklerin keşfi, bunların ticarileşmesi ve rutin uygulamalar haline gelmesi tıpta bir devrim yaratmış ve terapötik paradigmayı değiştirmiştir. Nitekim, antibiyotikler, diğerlerinin yanı sıra son teknoloji cerrahi prosedürler, katı organ nakli ve kanserli hastaların tedavisi gibi karmaşık tıbbi yaklaşımların geliştirilmesi için gerekli olan en önemli tıbbi müdahalelerden biri haline gelmiştir. Ne yazık ki, yaygın bakteriyel patojenler arasında antimikrobiyal dirençteki belirgin artış şimdi bu terapötik başarıyı tehdit etmekte ve kritik hastaların başarılı bir şekilde tedavi edilmesini tehlikeye atmaktadır. Gerçekten de Dünya Sağlık Örgütü antibiyotik direncini. yüzyılın en önemli üç halk sağlığı tehdidinden biri olarak tanımlamaktadır (Neu 1992, Frieri *et al*. 2017).

Çoklu ilaca dirençli organizmaların neden olduğu enfeksiyonlar, ilaca duyarlı bakterilerin neden olduğu hastalıklara kıyasla artan ölüm oranları ile ilişkilidir. Ayrıca dünya genelinde gerçekleştirilen sağlık harcamalarında önemli bir ekonomik yük oluşturmaktadırlar. Dünya genelindeki sağlık otoriteleri, ayrıca, her yıl binlerce insanın antibiyotiğe dirençli bir organizmanın neden olduğu enfeksiyon sonucunda hayatını kaybettiğini bildirmektedir. Bununla birlikte, 2050 yılına kadar antibiyotik direncinden dolayı 300 milyon kişinin erken ölümü ve küresel ekonomide 100 trilyon dolara kadar bir kayıp görüleceği beklenmektedir. Bu bağlamda, antibiyotik direncinin, tedavisi imkansız enfeksiyonların ortaya çıkmasına yol açabileceğini de belirtmek mümkün görünmektedir (Neu 1992, Frieri *et al*. 2017).

2.5.1 Antibiyotik direncinin genetik temelleri

Bakteriler, varlıklarını tehlikeye atabilecek antibiyotik moleküllerinin varlığı da dahil olmak üzere, çok çeşitli çevresel tehdide yanıt vermelerini sağlayan olağanüstü bir genetik esnekliğe sahiptir. Antimikrobiyal bileşen üreten organizmalarla aynı ekosistemi paylaşan bakteriler, zararlı antibiyotik moleküllerinin etkilerine karşı koymak için birtakım mekanizmalar geliştirmektedirler ve sonuç olarak, bakterilerin dirençleri antimikrobiyal moleküllerin var olduğu ortamlarda gelişmelerine izin vermektedir. Evrimsel bir perspektiften bakıldığında, bakteriler antibiyotik saldırısına uyum sağlamak için iki temel genetik strateji uygulamaktadır. Bu genetik stratejilerin ilgi, genellikle antimikrobiyal bileşenin etki mekanizması ile ilişkili gen veya genlerdeki mutasyonlar ve ikincisi ise yatay gen transferi yoluyla direnç belirleyicileri için yabancı DNA kodlarının edinimidir (Kudva *et al*. 2016).

2.5.1.1 Mutasyonal direnç

Mutasyonal dirençte, duyarlı bir popülasyondan türetilen bir bakteri hücresi alt kümesi, antimikrobiyal molekül varlığında, korunmuş hücre hayatta kalması ile sonuçlanan, ilacın aktivitesini etkileyen genlerde birtakım mutasyonlar geliştirmektedir. Dirençli bir mutant ortaya çıktığında, antibiyotik duyarlı popülasyonu ortadan kaldırmakta ve dirençli bakteriler baskın hale gelmektedir. Pek çok durumda, dirence yol açan mutasyon değişiklikleri hücre homeostazına mal olmaktadır ve bu durum sadece antibiyotik varlığında, ihtiyaç duyulduğunda sürdürülür. Genel olarak, antimikrobiyal dirençle sonuçlanan mutasyonlar, aşağıdaki mekanizmalardan biri yoluyla antibiyotik etkisini değiştirmektedir:

- ✓ Antimikrobiyal hedefin modifikasyonları (ilaca olan afinitenin azaltılması).
- ✓ İlaç alımında bir azalma.
- ✓ Zararlı molekülü çıkarmak için dışa akış mekanizmalarının aktivasyonu.
- ✓ Düzenleyici ağların modülasyonu yoluyla önemli metabolik yolaklardaki küresel değişiklikler.

Dolayısıyla, edinilmiş mutasyonal değişiklikler nedeniyle ortaya çıkan antibiyotik direnci çeşitlidir ve farklı derecede karmaşıklığa sahiptir (Kudva *et al*. 2016).

2.5.1.2 Yatay gen transferi

Yatay gen transferi yoluyla yabancı DNA materyalinin elde edilmesi, bakteriyel evrimin en önemli itici güçlerinden biridir ve sıklıkla antimikrobiyal direncin gelişmesinden sorumludur. Klinik uygulamada kullanılan antimikrobiyal ajanların çoğu çevrede ve çoğunlukla toprakta doğal olarak bulunan ürünler veya türevleridir. Çevreyi bu moleküllerle paylaşan bakteriler, direncin içsel genetik belirleyicilerini barındırmaktadır. Bu tür çevresel direnç ediniminin, klinik olarak ilgili bakterilerde antibiyotik direnç genlerinin elde edilmesinin verimli bir kaynağı olduğunu gösteren sağlam kanıtlar vardır (Kudya *et al.* 2016). Bu genetik değişim, sık kullanılan birçok antibiyotiğe karşı direncin yayılmasında rol oynamaktadır.

Klasik olarak *K. pneumoniae* ve *E. coli* de dahil olmak üzere bakteriler harici genetik materyali elde etmek için üç temel strateji geliştirmişlerdir. Bunları şu şekilde sıralamak mümkündür:

- ✓ Transformasyon / Dönüşüm (çıplak DNA'nın dahil edilmesi).
- ✓ Transdüksiyon (Faz Aracılı).
- ✓ Konjugasyon (Bakteriyel cinsiyet).

Yatay gen transferinin en basit türü transformasyondur. Ancak yalnızca çok az bir bakteri türü, direnç geliştirmek için doğal olarak çıplak DNA'nın dahil edilmesinde başarılıdır. Hastane ortamında direncin ortaya çıkması sıklıkla, hücreden hücreye teması içeren ve antibiyotik tedavisi gören insanların gastrointestinal kanalında yüksek oranlarda ortaya çıkması muhtemel olan çok etkili bir gen transferi yöntemi olan konjugasyonu içermektedir. Genel bir kural olarak, konjugasyon, kromozomdan kromozoma doğrudan transfer de iyi karakterize edilmiş olmasına rağmen, değerli genetik bilgiyi paylaşmak

için araçlar olarak mobil genetik elementleri (MGE'ler) kullanmaktadır (Manson *et al*. 2010). En önemli MGE'ler, her ikisi de klinik olarak ilgili organizmalar arasında antimikrobiyal direncin gelişmesinde ve yayılmasında önemli bir rol oynayan plazmitler ve transpozonlardır. Son olarak, antimikrobiyal direnç genlerinin biriktirilmesi için en etkili mekanizmalardan biri, mobil gen kasetleri biçiminde açık okuma çerçevelerini toplayabilen yere özgü rekombinasyon sistemleri olan integronlar tarafından temsil edilmektedir. İntegronlar, bakteriyel kromozomlara yeni genlerin eklenmesi için etkili ve oldukça basit bir mekanizma ve bunların ekspresyonunu sağlamak için gerekli mekanizma sağlar. Bu, güçlü bir genetik değişim stratejisi ve bakteriyel evrimin ana itici güçlerinden biridir (Thomas and Nielsen 2005).

2.5.2 Antibiyotik direnç mekanizmasının temelleri

Bakteriler, antimikrobiyal moleküller tarafından öldürülme ihtimalinden kaçınmak için karmaşık ilaç direnci mekanizmaları geliştirmiştir. Bu direnç mekanizmalarının muhtemelen milyonlarca yıllık evrimsel bir sürece dayandığı değerlendirilmektedir. Belirli bir antimikrobiyal sınıfa yönelik direnç, genellikle çoklu biyokimyasal yollarla edinilebilmektedir. Bir bakteri hücresi, bir antibiyotiğin etkisinden kurtulmak ya da korunmak için bir dizi çeşitli direnç mekanizmasını bir arada kullanabilmektedir. Örnek olarak, Örnek olarak, florokinolon direnci, belirli bir zamanda aynı bakteride bir arada bulunabilen üç biyokimyasal yoldan meydana gelebilir, bir katkı etkisi yaratır ve genellikle direnç seviyelerini yükseltir. Bu yollar şu şekilde sıralanabilmektedir:

- ✓ Florokinolonların hedef bölgesini kodlayan genlerdeki mutasyonlar. (DNA giraz ve topoizomeraz IV).
- ✓ İlacı hücreden çıkaran dışarı atım pompalarının aşırı salınımı.
- ✓ Florokinolon hedef bölgesinin Qnr olarak adlandırılan bir protein tarafından korunması.

Bununla birlikte, bazı bakteri türlerinin diğerlerine göre bazı direnç mekanizmaları için bir tercih geliştirdiği görülmektedir. Örneğin, Gram-negatif bakterilerde β-laktamlara

karşı baskın direnç mekanizması,-laktamazların üretimidir, oysa gram-pozitif organizmalarda bu bileşiklere direnç çoğunlukla hedef bölgelerinin, yani penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP) modifikasyonları ile sağlanmaktadır. Bu olayın muhtemelen gram-negatif ve gram-pozitif organizmalar arasındaki hücre zarfındaki büyük farklılıklardan kaynaklandığı iddia edilmektedir. İlkinde, bir dış zarın varlığı, moleküllerin periplazmik boşluğa girişinin kontrolüne izin vermektedir. Aslında, çoğu β-laktam, iç zarda bulunan PBP'lere ulaşmak için belirli porinlere ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle bakteri hücresi, bu moleküllerin periplazmik boşluğa erişimini kontrol ederek, kinetiği antibiyotik molekülünün yok edilmesi lehine döndürmek için yeterli konsantrasyonlarda β -laktamaz üretimine izin vermektedir. Tersine, bu "bölümlendirme" avantajı Gram-Pozitif organizmalarda yoktur, ancak β-laktamaz üretimi de stafilokokal penisilinaz gibi bazı durumlarda başarılı gibi görünmektedir.

Antibiyotik direnç mekanizmalarının kapsamlı bir sınıflandırmasını sağlamak için, bunları dirençle ilgili biyokimyasal yola göre aşağıdaki şekilde kategorize etmek mümkündür:

- ✓ Antimikrobiyal molekülün değişiklikleri (modifikasyonları).
- ✓ Bileşiğin antibiyotik hedefine ulaşmasının önlenmesi (penetrasyonu azaltarak veya antimikrobiyal bileşiği aktif olarak ekstrüde ederek).
- ✓ Hedef sitelerde değişiklikler ve / veya bunların atlanması.
- ✓ Küresel hücreye uyum sağlayan süreçlerden kaynaklanan direnç.

2.5.2.1 Antibiyotik molekülünün değişiklikleri

Antibiyotiklerin varlığıyla baş etmenin en başarılı bakteriyel stratejilerinden biri, bileşiğe belirli kimyasal kısımlar ekleyerek ilacı etkisiz hale getiren veya molekülün kendisini yok ederek antibiyotiğin hedefiyle etkileşime girmesini engelleyen enzimler üretmektir.

2.5.2.2 Antibiyotiğin kimyasal değişiklikleri

Antimikrobiyal moleküle kimyasal değişiklikler getirebilen enzimlerin üretimi, hem gram-negatif hem de gram-pozitif bakterilerde edinilmiş antibiyotik direncinin iyi bilinen bir mekanizmasıdır. bu enzimatik modifikasyonlardan etkilenen antibiyotiklerin çoğu, ribozom seviyesinde protein sentezini inhibe ederek etki mekanizmalarını kullanmaktadır (Wilson 2014). Birçok modifiye edici enzim türü tanımlanmıştır ve katalize ettikleri en sık biyokimyasal reaksiyonlar şunları içermektedir:

- ✓ Asetilasyon (aminoglikozitler, kloramfenikol, streptograminler).
- ✓ Fosforilasyon (aminoglikozitler, kloramfenikol).
- ✓ Adenilasyon (aminoglikositler, linkozamidler).

Biyokimyasal reaksiyondan bağımsız olarak, ortaya çıkan etki genellikle ilacın hedefi için aviditesini azaltan sterik engelle ilişkilidir ve bu da daha yüksek bakteriyel MIC'lerde yansıtılır.

lacın modifikasyonu yoluyla direncin en iyi örneklerinden biri, aminoglikozit molekülünün hidroksil veya amino gruplarını kovalent olarak modifiye eden aminoglikozid modifiye edici enzimlerin (AME'ler) varlığıdır. Bugüne kadar birden fazla AME tanımlanmıştır ve bunlar dünya çapında aminoglikozid direncinin baskın mekanizması haline gelmiştir. Bu enzimler genellikle MGE'lerde barındırılır, ancak AME'leri kodlayan genler, Providencia stuartii, Enterococcus faecium ve Serratia marcescens'deki bazı aminoglikozid asetiltransferazlarda görüldüğü gibi, belirli bakteri türlerinde kromozomun bir parçası olarak da bulunmuştur (Ramirez and Tolmasky, 2010). Birden fazla AME'yi sınıflandırmak için kullanılan terminoloji, biyokimyasal aktivitelerini, modifikasyon bölgesi olarak dikkate alır ve 1'den 6'ya kadar olan bir sayı ile gösterilir. Bu, şeker halkası ve reaksiyonun sırasıyla birinci veya ikinci şeker parçasında meydana geldiğini simgeleyen tek veya çift asal semboldür. k olarak, aynı reaksiyonu katalize eden birden fazla enzim olduğunda, onları ayırt etmek için bir roma rakamı kullanılmaktadır.

2.5.2.3 Antibiyotik molekülünün yok edilmesi

β-laktam direncinin ana mekanizması, bu bileşiklerin β-laktamazların etkisiyle yok edilmesine dayanmaktadır. Bu enzimler β-laktam halkasının amid bağını yok ederek antimikrobiyali etkisiz hale getirmektedir. β-laktamazlar ilk olarak 1940'ların başında, penisilinin piyasaya sürülmesinden bir yıl önce tanımlanmıştır, ancak milyonlarca yıldır var olduklarına dair kanıtlar vardır (Abraham and Chain 1940, D'Costa *et al*. 2011). Penisiline dirençli *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar, penisilin yaygın olarak bulunmaya başladıktan ve direnç mekanizmasının, *S. aureus* suşları arasında kolayca iletilen ve direnç özelliğinin hızlı bir şekilde yayılmasına neden olan plazmid kodlu bir penisilinaz olduğu bulunmasından sonra klinik olarak anlamlı hale gelmiştir (Bush 2013a). Bu problemin üstesinden gelmek için, daha geniş bir aktivite spektrumuna ve penisilinazlara (ampisilin gibi) daha az duyarlılığa sahip yeni-laktam bileşikleri üretilmiştir. Bununla birlikte, 1960'larda, Gram-negatif organizmalar arasında, ampisilini hidrolize edebilen yeni bir plazmid kodlu β-laktamaz bulunmuştur (Peterson and Bonomo 2005). O andan itibaren, yeni nesil-laktamların gelişimini sistematik olarak, antibiyotik kaynaklı adaptif bakteri evriminin en önemli örneği olan bir süreçte, herhangi bir yeni bileşiği yok edebilen enzimlerin hızla ortaya çıkması izlemiştir.

β -laktamazları kodlayan genler genellikle bla olarak adlandırılır, ardından spesifik enzimin adı yer alır (örneğin, blaKPC) ve bunlar, kromozomda bulunmakta veya aksesuar genomun bir parçası olarak MGE'lerde lokalize edilmektedir. Bu genler, yayılmalarını kolaylaştıran bir durum olan integronların bir parçası olarak da bulunabilmektedir. Ekspresyonları açısından, bu genlerin transkripsiyonu temel rolde olabilir veya üretimlerini indüklemek için harici bir sinyal gerektirebilir.

Bugüne kadar 1000'den fazla-laktamaz tanımlanmıştır ve daha pek çoğunun normal bakteri evrim sürecinin bir parçası olarak rapor edilmeye devam etmesi muhtemeldir. Bu çok sayıdaki enzimi gruplamak için iki ana sınıflandırma şeması önerilmektedir. lk olarak, Ambler sınıflandırması amino asit dizisi özdeşliğine dayanmakta ve β-laktamazları dört gruba (A, B, C, ve D) ayırmaktadır. Öte yandan, Bush ve Jacoby

sınıflandırması, β -laktamazları biyokimyasal işlevlerine göre, esas olarak substrat özgüllüğüne dayalı olarak her biri birkaç alt gruba sahip olan dört kategoriye ayırmaktadır (Bush 2013b, Bush and Jacoby 2010).

2.5.2.4 Azalan antibiyotik penetrasyonu ve akışı

2.5.2.4.1 Azalan geçirgenlik

Klinik uygulamada kullanılan antibiyotiklerin çoğu hücre içi bakteriyel hedeflere veya Gram-negatif bakteriler durumunda sitoplazmik membranda (iç membran) bulunan hedeflere sahiptir. Bu nedenle, bileşiğin antimikrobiyal etkisini uygulamak için dış ve / veya sitoplazmik zara nüfuz etmesi gerekmektedir. Bakteriler, antimikrobiyal molekülün alımını azaltarak antibiyotiğin hücre içi veya periplazmik hedefine ulaşmasını engelleyecek mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizma özellikle Gram-negatif bakterilerde önemlidir ve dış ortamdan madde girişini sınırlamaktadır. Aslında, dış zar, çeşitli antimikrobiyal maddeler de dahil olmak üzere çok sayıda toksik bileşiğin nüfuz etmesine karşı ilk savunma hattı görevi görmektedir. β-laktamlar, tetrasiklinler ve bazı florokinolonlar gibi hidrofilik moleküller, bu bariyeri geçmek için sıklıkla porinler olarak bilinen su dolu difüzyon kanallarını kullandıklarından dış zarın geçirgenliğindeki değişikliklerden özellikle etkilenmektedirler (Pagès *et al.* 2008). Bu doğal bariyerin etkinliğinin başlıca örneği, bir glikopeptid antibiyotik olan vankomisinin, dış membrandan penetrasyon eksikliğinden dolayı Gram-negatif organizmalara karşı aktif olmamasıdır. Benzer şekilde, Enterobacteriaceae ile karşılaştırıldığında, Pseudomonas ve *A. baumannii*'nin β-laktamlara doğal olarak gelen düşük duyarlılığı, en azından kısmen, porinlerin daha az sayıda ve farklı ekspresyonu ile açıklanabilmektedir (Hancock and Brinkman 2002).

Çeşitli porin türleri tanımlanmıştır ve yapılarına (trimerik veya monomerik), seçiciliklerine ve ekspresyonlarının düzenlenmesine göre sınıflandırılabilmektedirler. En iyi karakterize edilmiş porinler arasında, *E. coli* ve *P. aeruginosa* tarafından üretilen üç ana protein, porin aracılı antibiyotik direncinin klasik örnekler olarak verilebilmektedir.

Porinlerin değiştirilmesi üç genel işlemle sağlanabilmektedir. Bu işlemler şu şekilde sıralanabilmektedir:

- ✓ Eksprese edilen porin tipinde bir değişiklik.
- ✓ Porin ekspresyon seviyesinde bir değişiklik.
- ✓ Porin fonksiyonunda bozulma.

Bu mekanizmalardan herhangi biri yoluyla geçirgenlikte meydana gelen değişiklikler, sıklıkla düşük seviyeli dirençle sonuçlanmakta ve sıklıkla, dışa atım pompalarının artan ifadesi gibi diğer direnç mekanizmalarıyla ilişkilendirilmektedir (Nikaido 2003).

2.5.2.4.2 Dışa atım (Effux) pompaları

Hücreden toksik bir bileşiği ekstrüde edebilen karmaşık bakteri mekanizmalarının ortaya çıkması da antimikrobiyal dirençle sonuçlanabilmektedir. 1980'li yıllarda, Tetrasiklini *E. coli* sitoplazmasından pompalayabilen bir efluks sisteminin tanımı yapılmıştır ve bu ilk tarif edilenlerden biridir (Doménech-Sánchez *et al.* 2003). O zamandan günümüze kadar geçen süreçte, hem gram-negatif hem de gram-pozitif patojenlerde birçok akış pompası sınıfı karakterize edilmiştir. Bu sistemler substrata özgü olabilmekte (tetrasiklin için tet belirleyicileri ve pnömokoklarda makrolidler için mef genleri gibi belirli bir antibiyotik için) veya genellikle MDR bakterilerinde bulunan geniş substrat spesifikliğine sahip olabilmektedir (Poole 2005). Bu direnç mekanizması, protein sentez inhibitörleri, florokinolonlar, β-laktamlar, karbapenemler ve polimiksinler dahil olmak üzere çok çeşitli antimikrobiyal sınıfları etkilemektedir. Dışa atım pompalarını kodlayan genler, MGE'lerde veya kromozomda yer alabilmektedir. Kromozomal olarak kodlanmış pompalar, bazı bakteri türlerinin belirli bir antibiyotiğe doğal direncini açıklayabilir (örneğin, *Enterococcus faecalis* streptogramin A'ya içsel direnç) (Singh *et al.* 2002).
Beş ana dışa atım pompası ailesi vardır:

- ✓ Ana kolaylaştırıcı süperfamilya.
- ✓ Küçük çoklu ilaç direnç ailesi (SMR).

- ✓ Direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi ailesi (RND).
- ✓ ATP bağlayıcı kaset ailesi.
- ✓ Çoklu ilaç ve toksik bileşik ekstrüzyon ailesi.

Bu aileler, yapısal konformasyon, enerji kaynağı, ekstrüde edebilecekleri substratların aralığı ve dağıldıkları bakteri organizmaları açısından farklılık göstermektedir (Piddock 2006).

2.5.2.5 Hedef sitelerdeki değişiklikler

Bakterilerin antimikrobiyal direnç geliştirmesi için ortak bir strateji, hedef bölgelerine müdahale ederek antibiyotiğin etkisinden kaçınmaktır. Bunu başarmak için bakteriler, hedefin korunması (antibiyotiğin bağlanma yerine ulaşmasının engellenmesi) ve hedef bölgede antibiyotik molekülü için afinitenin azalmasına neden olan modifikasyonlar dahil olmak üzere farklı taktikler geliştirmiştir.

2.5.2.5.1 Hedef koruma

Bakteriyel kromozomda hedef korumaya aracılık eden proteinleri kodlayan bazı genetik belirleyiciler bulunmasına rağmen, bu direnç mekanizmasına dahil olan klinik olarak ilgili genlerin çoğu MGE'ler tarafından taşınmaktadır. Bu mekanizmadan etkilenen ilaçların örnekleri arasında tetrasiklin, florokinolonlar ve fusidik asit sayılabilmektedir.

Hedef koruma mekanizmasının klasik ve en iyi çalışılmış örneklerinden biri tetrasiklin direnç belirleyicileri Tet (M) ve Tet (O)'dur. Tet (M) başlangıçta *Streptococcus spp*. ve Campylobacter jejuni'deki Tet (O), ancak şimdi her ikisi de farklı bakteri türleri arasında geniş bir şekilde dağılmıştır, çünkü bunlar muhtemelen birkaç plazmitte ve geniş aralıklı konjugatif transpozonlarda bulunmuştur. Bu proteinler, GTPazların translasyon faktörü süper ailesine aittir ve protein sentezinde kullanılan uzama faktörlerinin (EF-G ve EF-Tu) homologları olarak hareket ederler. TetO ve TetM, ribozom ile etkileşime girer ve

tetrasiklini bağlanma yerinden GTP'ye bağlı bir şekilde çıkarır. Son zamanlarda TetM'nin, 16S rRNA'nın IV. domen alanı ile tetrasiklin bağlanma bölgesi arasındaki bir etkileşimle doğrudan ribozomdan tetrasiklini çıkardığını ve saldığını ortaya koymuştur. Dahası, bu etkileşim ribozomal konformasyonu değiştirerek antibiyotiğin yeniden bağlanmasını önlemektedir (Dönhöfer vd. 2012). Benzer şekilde, TetO'nun aynı ribozomal boşluk için tetrasiklin ile rekabet ettiği ve antibiyotiğin bağlanma bölgesinin geometrisini değiştirdiği, molekülü ribozomdan uzaklaştırdığı ve protein sentezinin devam etmesine izin verdiği gösterilmiştir (Li *et al*. 2013).

2.5.2.5.2 Hedef bölgenin değiştirilmesi

Hedef bölgeye modifikasyonlar getirmek, neredeyse tüm antimikrobiyal bileşik ailelerini etkileyen bakteriyel patojenlerde en yaygın antibiyotik direnci mekanizmalarından biridir. Bu hedef değişiklikleri aşağıdaki şekilde sıralanabilie:

- ✓ Hedef bölgeyi kodlayan genlerdeki nokta mutasyonları.
- ✓ Bağlanma sahasının enzimatik değişiklikleri (örneğin, metil gruplarının eklenmesi)
- ✓ Orijinal hedefin değiştirilmesi veya baypas edilmesi.

Bahsedildiği gibi, değişikliğin türüne bakılmaksızın, nihai etki her zaman aynıdır: antibiyotiğin hedef bölge için afinitesinde bir azalma görülmektedir.

2.5.2.6 Küresel hücre adaptasyonlarından kaynaklanan direnç

Yıllar süren evrim boyunca, bakteriler, insan vücudu da dahil olmak üzere en düşman ortamlarda hayatta kalabilmek için çevresel stres faktörleri ve baskılarla başa çıkmak için karmaşık mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bakterilerin besinler için rekabet etmesi ve üstünlük kazanmak için rakip organizmalar tarafından üretilen moleküllerin saldırısından kaçınması gerekmektedir. Belirli bir konakçı içinde, bakteriyel organizmalar, konakçının bağışıklık sistemi tarafından sürekli olarak saldırıya uğramakta ve kendilerini özellikle biyolojik nişlerde oluşturmak için, bu stresli durumlara uyum sağlamaları ve bunlarla başa çıkmaları çok önemli bir hal almaktadır. Bu nedenle, bakteriyel patojenler, hücre

duvarı sentezi ve membran homeostazı gibi temel hücresel süreçlerin bozulmasını önlemek için çok karmaşık mekanizmalar geliştirmiştir. Daptomisine (DAP) ve vankomisine (*S. aureus*'ta düşük düzey) direnç gelişimi, antibakteriyel saldırıya küresel hücreye uyarlanan bir yanıtın sonucu olan direnç fenotiplerinin klinik olarak en alakalı örnekleridir.

DAP, hücre zarfı homeostazını değiştirerek bakterisidal etkisini gösteren, doğuştan gelen bağışıklık sistemi tarafından üretilen katyonik antimikrobiyal peptidlerle ilgili bir lipopeptid antibiyotiktir. DAP'ın bakterisidal aktivitesi dört önemli adım gerektirmektedir. İlk olarak, DAP kalsiyum ile kompleks hale getirilir (molekülü pozitif yüklü hale getirir) ve ardından, genellikle negatif yüklü CM ile elektrostatik etkileşimler yoluyla hücre zarı (CM) hedefine yönlendirilmektedir. Son zamanlarda elde edilen kanıtlar, DAP'nin esas olarak KM'yi bölme septum seviyesinde hedeflediğini göstermektedir (Pogliano *et al.* 2012). İkincisi, antibiyotik molekülleri CM'ye ulaştıklarında, başlangıçta CM'nin dış yaprakçığında oligomerleşirler ve ardından bu DAP oligomerleri iç CM broşürüne ulaşır. CM'nin dış broşüründe DAP'ın oligomerizasyonu, fosfolipid fosfatidilgliserol (PG) varlığına bağlı görünmektedir (Zhang *et al.* 2014). Ek olarak, başka bir fosfolipid (kardiyolipin), DAP oligomerlerinin dıştan iç yaprakçığa translokasyonunda önemli bir rol oynar gibi görünmektedir, ancak katkısı tam olarak anlaşılamamıştır. Aslında, yüksek konsantrasyonlarda kardiyolipinin varlığının, DAP oligomerlerinin fosfolipid çift tabakanın iç broşürüne translokasyonunu önleyebileceğini gösteren kanıtlar vardır (Zhang *et al.* 2014). Üçüncüsü, DAP oligomerleri CM'nin iç broşürüne ulaştığında, CM'nin fizikokimyasal özelliklerini değiştirmesi ve sitoplazmadan iyonların (örneğin potasyum) sızmasını teşvik etmesi muhtemel transmembran gözenek benzeri yapılar düzenler ve elektrokimyasal değişiklikler oluştururlar. Son olarak, bu yapısal ve fonksiyonel CM değişiklikleri, tam olarak anlaşılamayan mekanizmalarla hücre lizizinin yokluğunda bakteri ölümüne yol açmaktadır (Zhang *et al.* 2014).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Hastaların Seçimi

Çalışmamız kapsamında yürütülen deneyler Irak'ın Ramadi Kentinde yer alan Al-Ramadi Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız kapsamında yürütülen deneylere 200 hasta dahil edilmiştir.

Bu hastaların seçilmesinde bir takım kriterler göz önünde bulundurulmuştur. Hasta seçim kriterleri şu şekilde sıralanabilmektedir:

- Hastaların 18 yaşından büyük olması.
- Üroloji kliniğine başvuru yapan ayakta hasta ya da yatarak tedavi edilen hasta olması.
- Üroloji kliniği tarafından idrar yolları enfeksiyonu kesin tanısı konmuş olması.
- Hastaların halihazırda çalışma sonuçlarını etkilemesi muhtemel herhangi bir ilaç kullanmıyor olması.
- Hastaların çalışma sonuçlarını etkilemesi muhtemel ek hastalıklarının olmaması.

Hastaların hastalık öyküleri, ailesel hastalık bilgileri, yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı gibi nitelikleri hakkında ayrıntılı bilgi alınmıştır.

Çalışmamıza 200 kadın hasta dahil edilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 41 ± 16,809 olarak tespit edilmiştir. Hastaların hiçbiri alkol ve sigara kullanmamaktadır. Hastaların hastalık öyküleri dikkatle incelenmiş ve çalışma sonuçlarını etkilemesi muhtemel herhangi bir kalıtımsal ya da kronik hastalık tespit edilmemiştir. Diyabet hastası ve kanser tedavisi gören hastalar çalışmadan dışlanmıştır. Deney grubunu oluşturan hastalar, çalışmaya uygun görülmüştür. Hastalar bilgilendirilerek hasta onam formları imzalatılmış ve Başhekimlik Etik Kurulu'ndan çalışma onayı alınmıştır.

3.2 Numunelerin Toplanması

İdrar yolları enfeksiyonu tanısı alan hastalardan idrar numunesi alınmıştır. İdrar numunelerin alınmasında izlenen yöntem şu şekildedir:

- Hastalardan sabah idrarının alınması. İdrar numunesi alımı özellikle sabah saatinde gerçekleştirilmiştir. Sabah idrarı günün diğer saatlerinde alınan idrar numunelerine kıyasla daha konsantredir ve idrar tahlili daha kesin sonuç vermektedir.
- Hastalardan temiz, koyu renkli kaplara idrar numunesi bırakması istenmiştir.
- Hastaların her birinden alınan numunelerden ayrı ayrı 10 – 15 mL numune temiz ve koyu renkli kaplara aktarılarak etiketlenmiştir.
- Numuneler doğrudan doğruya hasta tarafından Biyokimya Laboratuvarı Örnek Kabul ve Sınıflandırma Birimi Gişesine bırakılmıştır.
- Numuneler burada soğuk zincir depolama ila muhafaza altına alınmıştır.
- Numuneler Biyokimya Laboratuvarından soğuk zincir taşıma sistemi ile çalışmanın gerçekleştirileceği laboratuvara nakledilmiştir.

Numunelerin toplanması ile çalışmanın başlaması arasında geçen süre 92 dakika olarak kaydedilmiştir. Bu süre numunelerin dayanıklılığı ve muhafazası için uygundur ve çalışmayı etkilememektedir.

3.3 Numunelerin Hazırlanması

Hastalardan toplanan numuneler çalışmanın gerçekleştirildiği laboratuvara intikal ettirildiğinden sonra, analiz için hazırlanmıştır. Bu hazırlık aşaması (kültürlendirme) şu adımları içermektedir:

- Eşit hacimde numuneler Kanlı agar, Mac Conkey agar, EMB agar kültürlerine ekilmiş ve 35^{o}C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

- 24 saatlik sürenin sonunda, numuneler inkübasyondan alınarak 2000 g devirde 300 saniye boyunca santrifüje tabi tutulmuştur.
- Santrifüj sonucunda elde edilen sediment çökeltiler analiz için ayrılmıştır.

3.4 Suşlar ve Antibiyotik Direnç Analizi

Klebsiella pneumoniae ve *Escherichia coli* gram negatif bakterileri izole edilmiştir. İzolatlar, %20 gliserol içinde -20° C'de muhafaza edilmiş ve ardından Tüm klinik izolatlar Vitek 2 Compact otomatik sistemi kullanılarak tanımlanmıştır. Agar plakalarının yüzeyinde gelişen tüm koloniler, standart bakteriyolojik yöntemlerle tanımlanmıştır (Atyia 2014). Son tanımlama için Vitek-2 Sistemi (Biomerieux/Fransa) kullanılmıştır. Antibiyotik direnç testileri için Fransa menşeili VITEK 2 Compact Sistemi ve antibiyogram kartları kullanılmıştır.

Antibiyotik direnç testine göre ampisilin-sulbaktam, piperasilintazobaktam, seftazidim, sefotaksim, seftriakson, sefepim, doripenem, imipenem, eropenem, amikasin, gentamisin, siprofloksasin ve levofloksasin antibiyotikleri seçimli olarak kullanımıştır.

3.5 DNA İzolasyonu

DNA İzolasyonu için şu adımlar takip edilmiştir:

- EMB Agar difüzyon plakaları gliserol içerisindeki *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* izolatları 37ºC'de 16 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyonun tamamlanmasının ardından izolatlardan ekstre edilecek koloniler 3 mL Sıvı LB içerisine ekilmiştir.
- Bir gece boyunca bekletilen 1.5 mL kültür, ertesi sabah 13000 rpm devri ile 1 dakika süre ile santrifüje tabi tutulmuştur.
- 500 uL deiyonize su içinde çözünmesi sağlanmış ve pelet üzerindeki DNA toplam izolasyonu kaynatılarak elde edilmiştir.
- Bakteri hücreleri 600 saniye boyunca 95ºC sıcaklıkta ısıtılmış ve lizlenmesi sağlanmıştır.

- Süpernatantlar PCR Reaksiyonlarında kullanılmak üzere ayrılmıştır.
- Polimeraz Zincir Rekasiyonunda (PCR) Sınıf 1 İntegron analizi yapılmıştır.
- Elde edilen DNA örnekleri, PCR reaksiyonuna kadar geçen süre içerisinde -20^{o}C'de saklanmıştır.

3.6 Sınıf 1 İntegron İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Klebsiella pneumoniae ve *Escherichia coli* suşlarında sınıf 1 integron varlığı PCR yöntemi ile analiz edilmiştir. İntegronun saptanması için kullanılan primerler aşağıdaki Çizelge 3.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1 Çalışmada Kullanılacak Spesifik Primerler ve Uygulama Sıcaklıkları (Tm) (Pérez-Pérez and Hanson 2002)

Primer	5' – 3'	Amplicon Boyutu (bp)	Tm
OXA - 51	F: TAATGCTTTGATCGGCCTTG R: TGGATTGCACTTCATCTTGG	353	55°C
OXA - 23	F: GATCGGATTGGAGAACCAGA R: ATTTCTGACCGCATTTCCAT	501	55°C
OXA - 24	F: GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA R: AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	246	52ºC
OXA -58	F: AAGTATTGGGGCTTGTGCTG R: CCCCTCTGCGCTCTACATAC	599	52 ºC
GES	F:ATGCGCTTCATTCACGCAC R:CTATTTGTCCGTGCTCAGGA	863	56 ºC
IMP	F:CATGGTTTGGTGGTTCTTGT R:ATAATTTGGCGGACTTTGG	488	56 ºC
VIM	F:ATTGGTCTATTTGACCGCGTC R:TGCTACTCAACGACTGAGCG	780	58 ºC
CTX-M1	F:GCGTGATACCACTTCACCTC R:TGAAGTAAGTGACCAGAATC	260	50 ºC
CTX-M2	F:TGATACCACCACGCCGCTC R:TATTGCATCAGAAACCGTGGG	341	50 ºC
NDM	F: GAGATTGCCGAGCGACTTG R: CGAATGTCTGGCAGCACACTT	457	54 ºC
SINIF 1 INTEGRON	5'CS:5'-GGCATCCAAGCAGCAAG-3' 3'CS:5'-AAGCAGACTT ACCTGA-3'	483	55 ºC
KPC	F: ATGTCACTGTATCGCCGTCT R: TTTTCAGAGCCTTACTGCCC	538	58 ºC

DNA analizi için elde edilen sonuçların yorumlanmasında ve değerlendirilmesinde EXpasy ve Blast programları kullanılacaktır. Bu programlar şu adreslerde yer almaktadır. http://web.expasy.org/translate/ ve http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

PCR hazırlanmasında aşağıdaki adımlar uygulanmıştır:

- 1.5 mikrolitre DNA polimeraz I (GoTaq, Promega), 5 µL DNA, 10 µL 5X DNA polimeraz tamponu (Promega), 3 µL 1,5 mM MgCl2, 2,5 µL 4 mM her bir dNTP ve her biri 1,5 µL primer stok (25 pmol / µL) ve steril deiyonize su ile 50 µL'lik nihai hacim oluşturulmuştur.
- Integron için amplifikasyon, 94°C'de 3 dakika (başlangıç denatürasyon), 45 saniye 94°C'de, 1 dakika 55°C'de, 3 dakika 72°C'de (34 döngü) ve son sentez 72°C'de gerçekleştirilmiştir.
- PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi üzerinde gerçekleştirilmiş ve UV görüntülemesi yapılmıştır.
- DNA dizi analizi için pozitif değerlendirilmiştir.
- PCR'de beta laktamazların belirlenmesinde kullanılacak oligonükleotidler Çizelgede gösterilmiştir.

PCR hazırlanması:

- 1.5 birim DNA polimeraz I (GoTaq, Promega), 5µL DNA, 10µL 5X DNA polimeraz tamponu (Promega), 3 µL 1,5 mM MgCl2, her bir dNTP'den 2,5µL 4 mM ve her biri bir primer stoktan (25 pmol / µL) 1,5 µL ve steril ile 50 µL'lik son hacim deiyonize su ile son hacim oluşturulmuştur.
- PCR amplifikasyonu için kullanılan Sıcaklıklar Çizelgede gösterilmiştir
- PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi üzerinde çalışılmış ve UV'de görüntülenmiştir.

3.7 Kullanılan Malzemeler

- Antibiyotik kartları: (Seftazidim (CAZ), Seftriakson (CRO), Amoksisilin/Klavulanik asit (AMC), Sefoksitin (FOX), Sefotaksim (CTX), Aztreonam (ATM), Sefepim (FEP),

Tikarsilin /Klavulanik Asit (TIM),Ertapenem (ETP), Seftazidim /Klavulanik Asit (CAZ+CLA), Sefotaksim /Klavulanik Asit (CTX+CLA))

- Etüv (Megaterm E-220 P / Türkiye).
- Vitek – 2 (BioMerieux / Fransa).
- Buzdolabı – (Bosch / Almanya).
- Dondurucu – (Bosch / Almanya).
- Mikroskop – (Scientifica / İngiltere).
- Serum fizyolojik çözeltisi.
- Besiyerleri (MacConkey Agar, Kanlı Agar, Müeller Hinton Agar, ECB Agar, Kligler)
- Cam tüpler.
- Eküvyon çubuklar.
- Vitek – 2 kartları.
- Gram boya.
- PCR Tüpü.
- DNA Ladder (Catalog No. D0428), Sigma-Aldrich, 100pb.
- dNTP (Deoxynucleosıde triphosphate).
- Primer çiftleri (Eurofins Genomics Company - German)
- Etidyum Bromür Çözüm (0.625 mg/mL), Thermo Scientific^{TM} (Catalog numbar: 17896).
- Polimeraz (Promiga-USA)

4. SONUÇLAR

4.1 *E. Coli*

Çalışmamız kapsamında oluşturulan deney grubunda yer alan 200 hastadan 100 tanesi, üroloji kliği tarafından klasik tedavi yöntemleri ile *E.coli* kaynaklı İYE tanısı almıştır. Bu hastalardan alınan numuneler 3. Bölümde belirtilen yöntemlerle analiz edilerek, antibiyotik dirençleri incelenmiştir.

4.1.1 GSBL pozitif suşlar

GSBL Pozitif olduğu tespit edilen *E. coli* suş sayısı 60'tır. Suşların antibiyotik direnci oranlarına aşağıdaki Çizelge 4.1'de yer verilmektedir.

Çizelge 4.1 GSBL (+) *E. coli* suşlarında Antbiyotik Direnci ve Antibityotik Duyarlılığı

Antibiyotik	Direnç		Duyarlılık	
	n	%	n	%
Amoksisilin	50	83,33	10,00	16,67
Ampisilin	60	100,00	0,00	0,00
Amikasin	5	8,33	55,00	91,67
Gentamisin	24	40,00	36,00	60,00
İmipenem/Silastatin	1	1,67	59,00	98,33
Levofloksasin	45	75,00	15,00	25,00
Nitrofurantoin	4	6,67	56,00	93,33
Sefazolin	57	95,00	3,00	5,00
Sefotetan	2	3,33	58,00	96,67
Seftriakson	59	98,33	1,00	1,67
Seftazidim	58	96,67	2,00	3,33
Siprofloksasin	49	81,67	11,00	18,33
Tobramisin	50	83,33	10,00	16,67
Piperasilin	15	25,00	45,00	75,00
Trimetoprim	44	73,33	16,00	26,67

60 adet GSBL Pozitif *E.coli* suşlarına bakıldığında, *E. coli* nin, Ampisilin, Sefazolin, Seftriakson, Seftazidim, Siprofloksasin, Tobramisin ve Trimetoprim'e yüksek direnç gösterdiği tespit edilmektedir. Bununla birlikte, Amikasin, İmipenem, Nitrofurantoin, Sefotetan antibiyotiklerine düşük direnç geliştirildiği görülmekedir.

GSBL pozitif bulunan 60 adet E.coli suşlarının GSBL genleri pozitifliği yönünden; 50'sinde (%8,33) TEM geni, 10'unda (%16,6) SHV geni, 30'unda (%50,0) CTX-M geni bulunmuştur. Ayrıca bu suşların 20'sinde (%33,3) pap, 40'ında (%66,6) fim-A, 6'sında (%10) sfa virulans faktörleri pozitif bulunmuştur. 5 suşta ise GSBL genleri ve *E. coli* virulans faktörlerinden hiç biri bulunamamıştır.

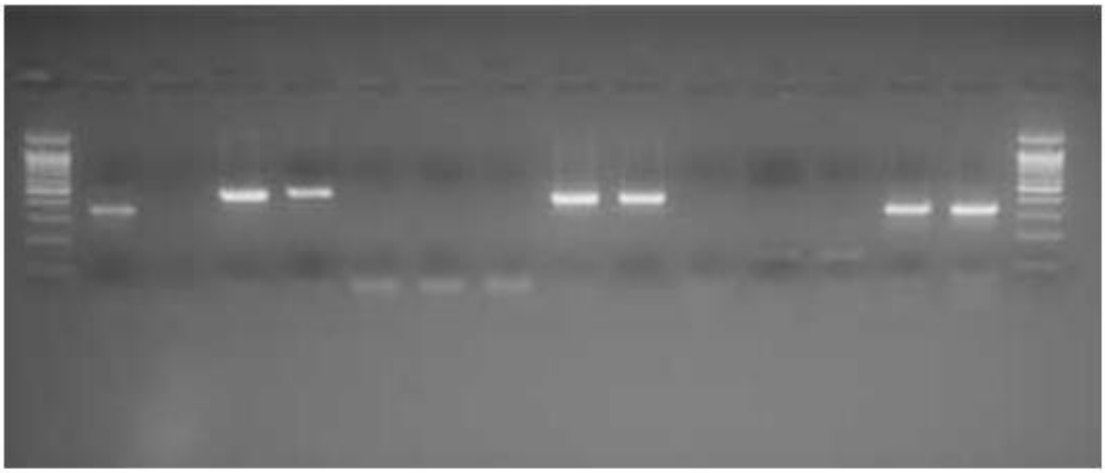
E. coli'nin 77 izolatını içeren önceki çalışmada elde edilen sonuçların aynısını göstermiştir. Bu izolatlar çoklu ilaç direnci (MDR) ve belirlenen GSBL için test edilmiştir. ESBL üreten *E. coli* izolatları arasında, PCR tekniği ile saptanan üç bla geninin (bla TEM, bla CTX-M ve bla SHV genleri) tamamı yer almıştır. Bla TEM baskın genlerdir, ardından bla CTX-M ve bla SHV bulunmuştur. MDR GSBL üreten *E. coli* prevalansının yüksek göründüğü ve en yüksek tanımlanan genin bla TEM olduğu sonucuna varılabilmektedir. Direnç paterni bilgisi, hekimin uygun deneysel antibiyotik rejimlerini seçmesine yardımcı olabilir, böylece yüksek direnç paterni gibi görünen antibiyotiklerden kaçınılabilmektedir. Bu, bakterilerin tanısal özelliğinin genetik kodunu taşıyan bakteri (TEM, bla CTX-M ve bla SHV genleri) anlamına gelmektedir ve dolayısıyla sonuçlar, genin bakteri için bir tanı geni olduğunu göstermektedir. Bu bakterilerin teşhisinde zamandan tasarruf sağlamak için genin kullanımından vazgeçilmiştir, bu bakterilerin teşhisinde elde edilen çaba, yüksek doğruluk ve sonuçlarımız, tarafından belirtilenlerle tutarlıdır (Jena *et al*. 2017). İdrar yolu enfeksiyonu (İYE) ile enfekte Sudanlı hastalardan izole edilen Escherichia coli arasında geniş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) fenomeninden sorumlu olan CTX-M, SHV ve TEM gibi bazı genleri tanımlamak için yapılan başka bir çalışmadır. İzolatların (%52,3)'ünde CTX-M, SHV ve TEM genlerinin varlığı kesin olarak saptanmış olup, rutin yöntemler yerine tanı yöntemi olarak kullanılabilmektedir. Yukarıdaki daha önce yapılan (Jena *et al*. 2017) (Ahmed *et al*. 2013), çalışma sonuçları ile çalışmamız tamamen uyumludur.

4.1.2 GSBL negatif suşlar

Şekil 4.1'de 40 adet GSBL (-) *E.coli* suşlarının GSBL genleri pozitifliği yönünden; 40'ında (%100,0) TEM geni, 8'inde (%20,0) SHV geni bulunmuş, ancak hiçbir suşta CTX-M geni bulunamamıştır. Ayrıca 20'sinde (%25,0) pap, 32'sinde (%800) fim-A, 20'sinde (%25,0) sfa virulans faktörleri pozitif bulunmuştur.

Kaur, et al. izolatların %45,8'inin CLSI doğrulama yöntemi ile GSBL üreticisi olduğu ve E-test GSBL stripleri ile doğrulandığı tespit edilmiştir. Çalışmadaki E.coli'nin çoğunluğu CTX-M genlerine (%59,32) sahiptir (Kaur and Aggarwal 2013). Başka bir çalışmada (Bajpai *et al*. 2017), fenotipik olarak görülmüş18 (%45) GSBL üreticisi ve fenotipik olarak doğrulanmış 20 (%52,5) GSBL olmayan üretici arasında GSBL genleri tespit edilmiştir. Baskın olan gen blaTEM (%48,7)'dır, ardından sırayı (%7,6) ve blaSHV (%5,1) izlemiştir (Ahmadi *et al*. 2021). Bu sonuçlar çalışmamızla uyumluydu.

- *Agaroz Jel Elektrofezi*



Şekil 4.1 GSBL genleri ve virulans faktörleri jel elektroforezde dağılımı sırasıyla CTX-M, 'e ait 2 örnek, fimA'ya ait 2 örnek, TEM'e ait 3 örnek, sfa'ya ait 2 örnek, SHV'ye ait 3 örnek ve pap'a ait 2 örnek gösterilmiştir. Sırası; 100 bp marker, 1-1, 1-4, 2-2, 2

4.2 *Klebsiella Pneumoniae*

Çalışmamız kapsamında oluşturulan deney grubunda yer alan 200 hastadan 100 tanesi, üroloji kliği tarafından klasik tedavi yöntemleri ile *K.pneumoniae* kaynaklı İYE tanısı almıştır. Bu hastalardan alınan numuneler 3. Bölümde belirtilen yöntemlerle analiz edilerek, antibiyotik dirençleri incelenmiştir.

K. pneumoniae için *E. coli* den farklı olarak antibiyotik seçimi gerçekleştirilmiş ve bu bakterinin genleri analiz edilmiştir. Detaylar aşağıda yer almaktadır.

K. pneumoniae antibiyotik direncinin araştırılmasında PCR uygulaması, antibiyotik direnci ile ilişkili genlerin tespiti için kullanılmıştır.

Bu B-Laktamaz genleri Çizelge 4.2'de gösterilmektedir. Deneyin bu kısmında kullanılan tüm primerler ve tüm PCR sıcaklık döngü koşulları sırasıyla aşağıdaki Çizelge 4.3'de yer almaktadır.

Çizelge 4.2 *K. Pneumoniae*'nin antibiyotik direnci ile ilişkili genleri için PCR'de kullanılan primerlerin dizilenmesi

Gen *K.pneumoniae*	Oligo dizi (3' – 5')	Boyut (bp)
B-Laktamaz Genleri		
blaTEM	F: CAGCGGTAAGATCCTTGAGA R: ACTCCCCGTCGTGTAGATAA	643
blaSHV	F: GGCCGCGTAGGCATGATAGA R: CCCGGCGATTTGCTGATTTC	714
blaCTX-M	AACCGTCACGCTGTTGTTAG TTGAGGCGTGGTGAAGTAAG	766
blaCTX-M-1	GCGTGATACCACTTCACCTC TGAAGTAAGTGACCAGAATC	260
blaCTX-M-2	TGATACCACCACGCCGCTC TATTGCATCAGAAACCGTGGG	341
blaCTX-M-8	F: TTTGCCCGTGCGATTGG R: CGACTTTCTGCCTTCTGCTCT	368
blaCTX-M-9	F: ATGGTGACAAAGAGAGTGCA R: CCCTTCGGCGATGATTCTC	870
blaCTX-M-25	F: TTGTTGAGTCAGCGGGTTGA R: GCGCGACCTTCCGGCCAAAT	490
Kinolon Direnci İle İlişkili Genler		
qnrA	ATTTCTCACGCCAGGATTTG GATCGGCAAAGGTTAGGTCA	627
qnrB	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG ACGATGCCTGGTAGTTGTCC	469
aac(6')-Ib-cr	TGACCAACAGCAACGATTCC TTAGGCATCACTGCGTGTTC	554
Aminoglikozid direnci ile ilişkili genler		
aacC1	F:ATGGGCATCATTCGCACATGTAGG R: TTAGGTGGCGGTACTTGGGTC	873
aacC2	F: ATGCATACGCGGAAGGCAATAAC R: CTAACCGGAAGGCTCGCAAG	861
Penem direnci ile ilişkili gen		
blaIMP	F:GGAATAGAGTGGCTTAATTCTC R:CCAAACCACTACGTTATC	624

Çizelge 4.3 *K. pneumoniae*'nin 14 antimikrobiyal direnci ile ilişkili genleri için PCR'nin sıcaklık döngü koşulları

Gen	Sıcaklık (ºC)	Süre (Saniye)	Denatürasyon	Tav	Ekst.	Döngü Sayısı	Son ekst.
TEM	95	300	94 ºC/30 s.	52 ºC/45 s.	72ºC/45 s.	30	72ºC/300 s
SHV	95	300	94 ºC/30 s.	55 ºC/45 s.	72ºC/45 s.	30	72ºC/300 s
CTX-M	95	300	94 ºC/30 s.	57 ºC/45 s.	72ºC/45 s.	30	72ºC/300 s
CTX-M-1	95	240	94 ºC/30 s.	54 ºC/45 s.	72ºC/60 s.	30	72ºC/600 s
CTX-M-2	95	300	94 ºC/30 s.	56 ºC/45 s.	72ºC/60 s.	35	72ºC/300 s
CTX-M-8	95	300	94 ºC/50 s.	50ºC/40 s.	72ºC/120s.	35	72ºC/300 s
CTX-M-9	95	300	95 ºC/30 s.	50ºC/40 s.	72ºC/120s.	35	72ºC/300 s
CTX-M-25	95	300	94 ºC/30 s.	53ºC/40 s.	72ºC/120s.	30	72ºC/300 s
qnrA	95	300	94 ºC/30 s.	55ºC/60 s.	72ºC/120s.	30	72ºC/300 s
qnrB	95	300	94 ºC/30 s.	55ºC/60 s.	72ºC/120s.	30	72ºC/300 s
aac(6')-Ib-cr	95	300	94 ºC/30 s.	55ºC/60 s.	72ºC/120s.	30	72ºC/300 s
aacC1	95	300	94 ºC/60 s.	55ºC/60 s.	72ºC/120s.	30	72ºC/300 s
aacC2	95	300	94 ºC/60 s.	55ºC/60 s.	72ºC/120s.	30	72ºC/300 s
blaIMP	95	300	95 ºC/50 s.	50ºC/60 s.	72ºC/60 s.	35	72ºC/300 s

Gram boyamaya göre 100 *K. pneumoniae* suşundan 75 tanesinin (%75) gram negatif bakteri olduğu, 20 tanesinin (%20) gram negatif bakteri olduğu ve 5 tanesinin (%5) herhangi bir bakteri büyümesine yer vermediği görülmüştür.

4.2.1 Antibiyotik duyarlılık testi 75 *K. pneumoniae* suşu için yapılmıştır

Bu çalışmanın sonuçları, 43 suşun 25µg amoksisilin, amoksisilin + klavulanik asit 20 + 10µg, sefotaksim 30µg, seftriakson 30µg, nitrofurantoin 30µg, ve seftazidim 30µg'ye antimikrobiyal direnç oranlarının yüksek olduğunu göstermektedir (97,67 - %90,69). Doksisiklin 30µg, tetrasiklin 30UI, gentamisin 15µg, ve kloramfenikol 30µg için orta direnç oranı gözlenmiştir ve %48,83 – 44,18 arasında değişmektedir. En düşük direnç oranı amikasin 30µg (% 25,58) ve imipenem 10µg (% 9,30) için gözlenmiştir. Ayrıca, mevcut çalışmanın sonuçları, *K. Pneumoniae* 'nin 24 (% 74,41) MDR (Çoklu ilaç direnci), olduğunu ortaya koymaktadır. Detaylar Çizelge 4.4'te gösterilmektedir.

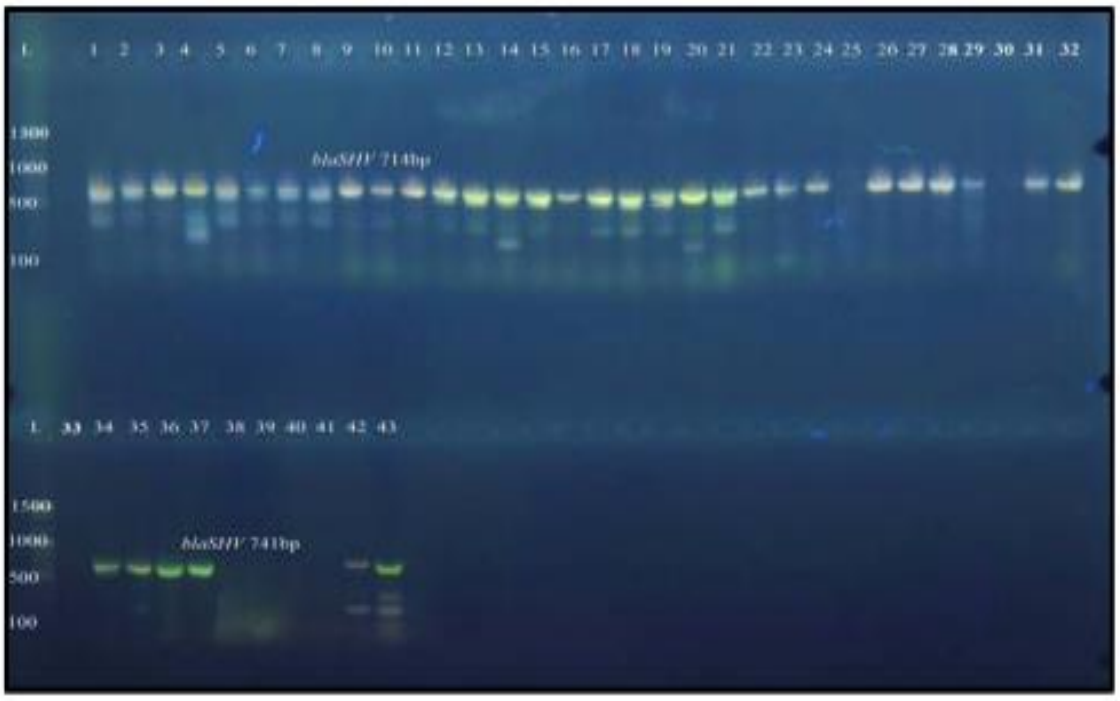
Çizelge 4.4 *K. Pneumoniae*'nin antibiyotik direnç profili

Fenotipik Direnç Profili	n	%	Direnç Türü	ESBL
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, CN,TE, F	8	57,14	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, CN, TE, F	8	57,14	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, CN, TE, DO, C, F	10	71,42	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, CN, TE, DO, C, F	10	71,42	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, CN,TE DO, C, F	10	71,42	MDR	+
AX, AMC, CRO, CAZ, CN, TE, C, FAX, AMC, CTX, CRO, CIP, F	8	57,14	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, IMP, CN, CIP, F	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CN, F	8	57,14	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CN, F	6	42,85	MDR	-
AX, AMC CTX, CAZ, CN, F	6	42,85	MDR	-
AX, AMC, CTX, CAZ, CN, F	6	42,85	MDR	-
AX, AMC, CTX, CRO CAZ, F	6	42,85	MDR	-
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, F	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, F	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, F	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, F	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CRO, CAZ, F	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CTX CRO, CAZ, F	7	50	MDR	-
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, F	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ, F	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ	6	42,85	MDR	+
AX, AMC, CTX, CRO, CAZ	7	50	MDR	-
AMC, CTX, CRO, CAZ, F	7	50	MDR	-

AX: Amoksisilin 25µg, AMC: Amoksisilin + Klavulanik asit 20 + 10µg, CTX: Sefotaksim 30µg, CRO: Seftriakson 30µg, CAZ: Seftazidim 30µg, IMP: Imipenem 10µg, CN: Gentamisin 15µg, AK: Amikasin 30µg, TM: Tobramisin 10µg, TE: Tetrasiklin 30 UI, DO: Doksisiklin 30µg, CIP: Siprofloksasin 5µg, C: Kloramfenikol 30µg, F: Nitrofurantoin 30µg, MDR: Çoklu ilaç direnci, ESBL: Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz, +: Pozitif, -: Negatif

4.2.2 *K. pneumoniae* ve *E. coli* bakterilerinde BlaSHV genlerinin tespiti

DNA zincir reaksiyonu testi, PCR kullanılarak ve BlaSHV başlatıcı kullanılarak yapılmıştır. BlaSHV geninin, izolat 25 dışında 1 ila 28 arasındaki tüm *K. pneumoniae* izolatlarında göründüğüne dikkat edilmalıdır. BlaSHV geni, izolat 30, 38, 39, 40 hariç, 29 ila 43 arasındaki tüm *E. coli* izolatlarında görünmüştür. Bu sonuçlar, *K. pneumoniae* ve *Escherichia coli* bakterilerinin çoğu suşunda yaygın olan bir özellik olan antibiyotik direnç genlerinin varlığının, bakterilerin antibiyotik direnç özelliğinin üretimi için genetik kodu taşıyan genlere sahip olduğu anlamına geldiğini göstermiştir. BlaSHV geninin varlığı, çalışma sonuçlarının sonuçlarıyla antibiyotik direnç duyarlılık testlerinin sonuçlarıyla eşleşmiştir. Şekil 4.2'de gösterilen sonuçlar, BlaSHV geninin K. pneumoniae izolatlarında %62,7 oranında aynı ekspresyona sahip olduğunu, buna karşın *E. coli* izolatlarında BlaSHV geninin %23,2 oranında tespit edildiğini göstermiştir.

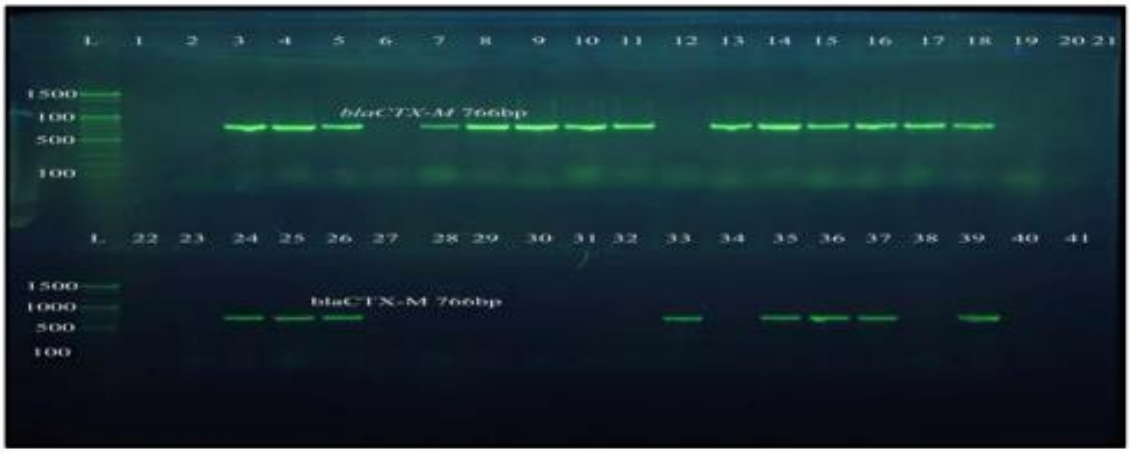


Şekil 4.2 Agaroz Jel Elektrofezi: BlaSHV741 bp. Multipleks PCR ürünleri BlaSHV741 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 43 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA ladderi

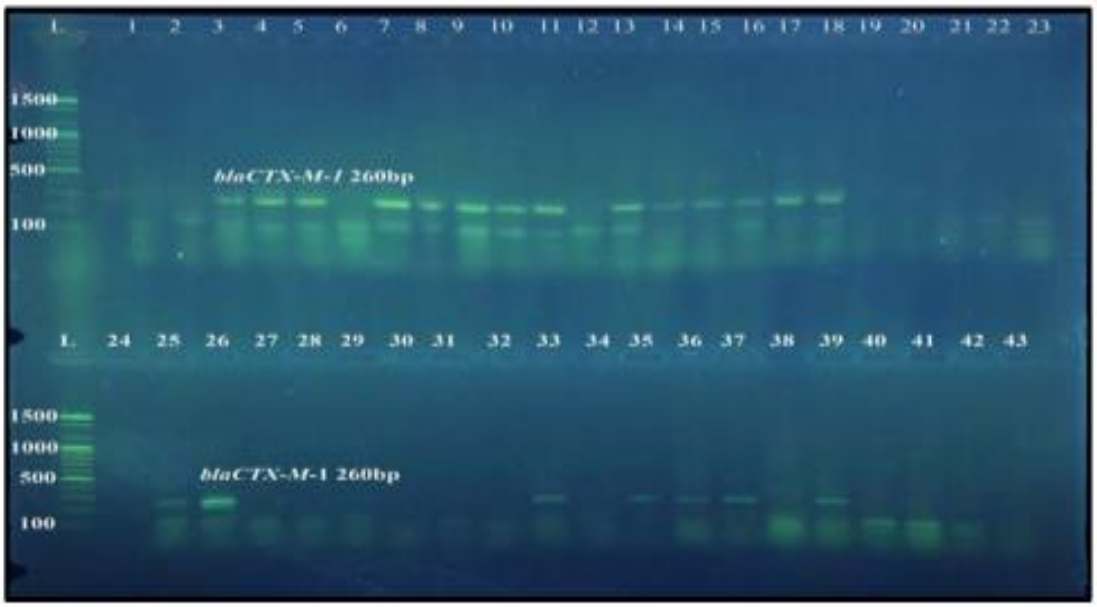
K. pneumoniae ve *E. coli* bakterilerinde blaCTX-M ,BlaCTX-M-1 ve Bla CTX-M-2 genlerinin tespiti

E. coli izolatlarının çoğu blaCTX-M geninden yoksundu ve izolatlarda sadece 33, 35, 36, 37, 39 görülmüştür. blaCTX-M, BlaCTX-M-1 için 266bp ve Bla CTX-M-2 için 341, *K. pneumonia* izolatlarında olduğu gibi, gen 1, 2, 6, 12, 19, 20, 21, 22, 27, 28 dışında izolatların çoğunda ortaya çıkmıştır. blaCTX-M ve blaCTX-M geninin birkaç izolatta ortaya çıktığını ve diğer izolatlarda görünmediğini kaydedilmektedir. Bazı araştırmalarda, bu genin bakteri ırklarında biraz göründüğünü söylemişlerdir, bu genin küçük bir yüzdede ortaya çıkmadığını, nükleik asit dizisinde bir değişikliğe yol açtığını, blaCTX-M geninin özelliği göstermekten sorumlu olmadığı görülmektedir ya da belki başka bir gen özelliği göstermekten sorumludur. Antibiyotik direnci gibi belirli baskın genler, belirli bir genden sorumludur (Stokes *et al*. 2011).

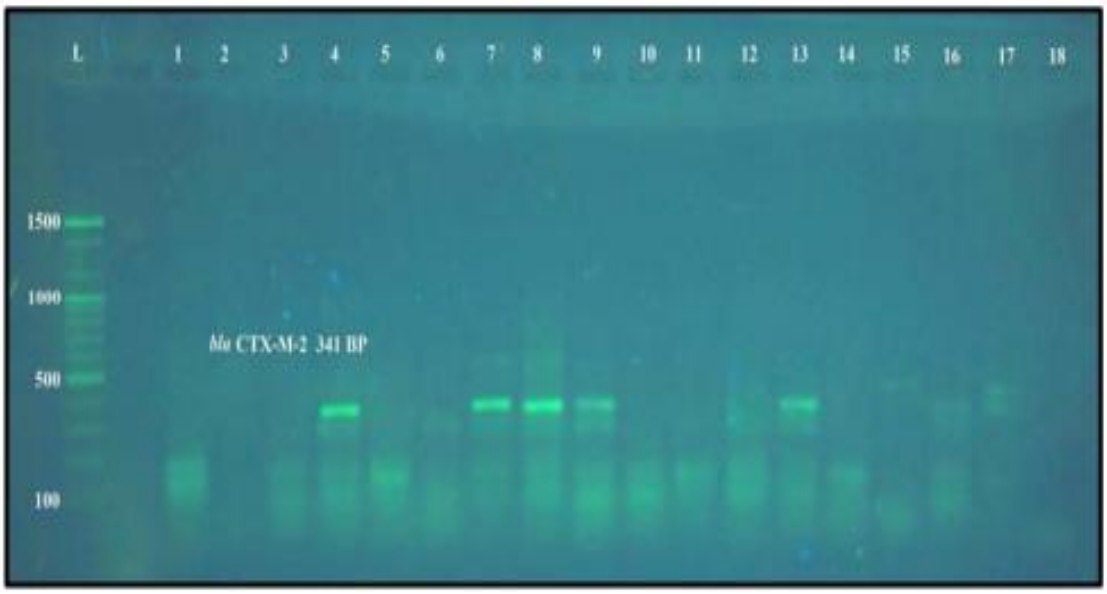
Şekil 4.3'ten, *K. pneumoniae*'deki blaCTX-M geninin %41,4'te ortaya çıktığını, aynı gende *E. coli* izolatlarında ise kendini %12,1'de ifade ettiğini gözlemlemktedir. Şekil 4.3'te gösterilen sonuçlar, BlaCTX-M-1 geninin *K. pneumoniae* izolatlarında %37,2 ve *E. coli* izolatlarında %11,6 oranında göründüğünü göstermiştir. Şekil 5'te belirtilen sonuçlar BlaCTX-M-2 geninin *K. pneumoniae* izolatlarında %22,2 ve *E. coli* izolatlarında %5,5 ile ortaya çıktığını göstermiştir.



Şekil 4.3 Multipleks PCR ürünleri blaCTX-M 766bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E.coli* 29 ila 41 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA ladderi



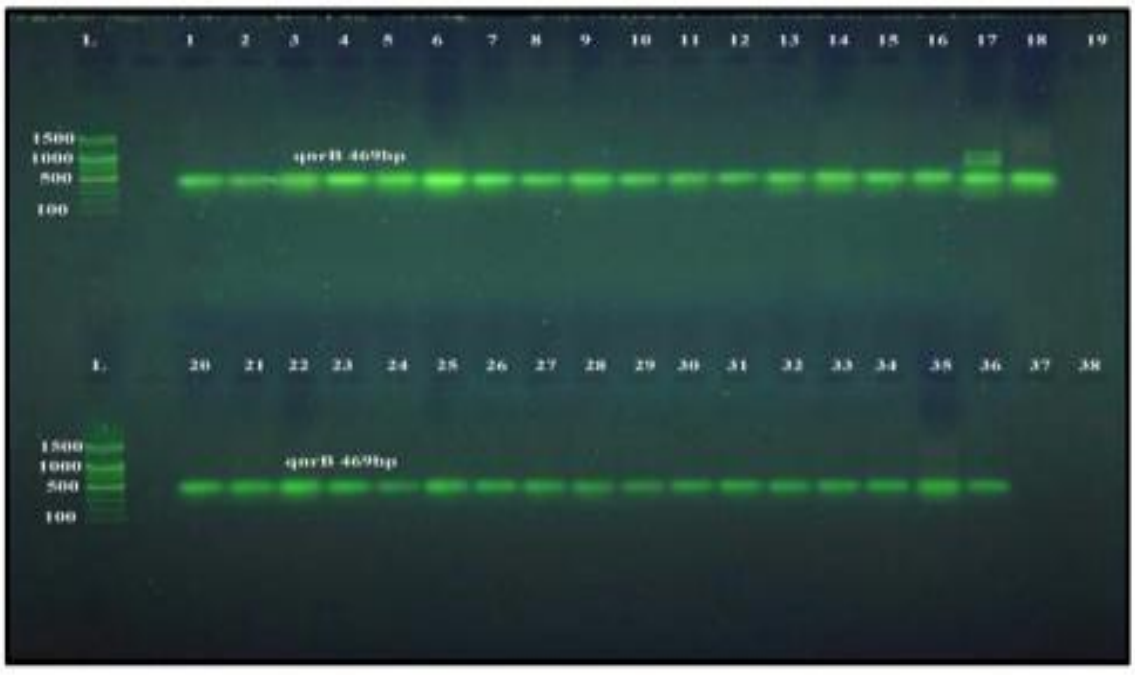
Şekil 4.4 Agaroz Jel Elektrofezi: BlaCTX-M-1 260 bp. Multipleks PCR ürünleri BlaCTX-M-1 260 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 41 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA ladderi



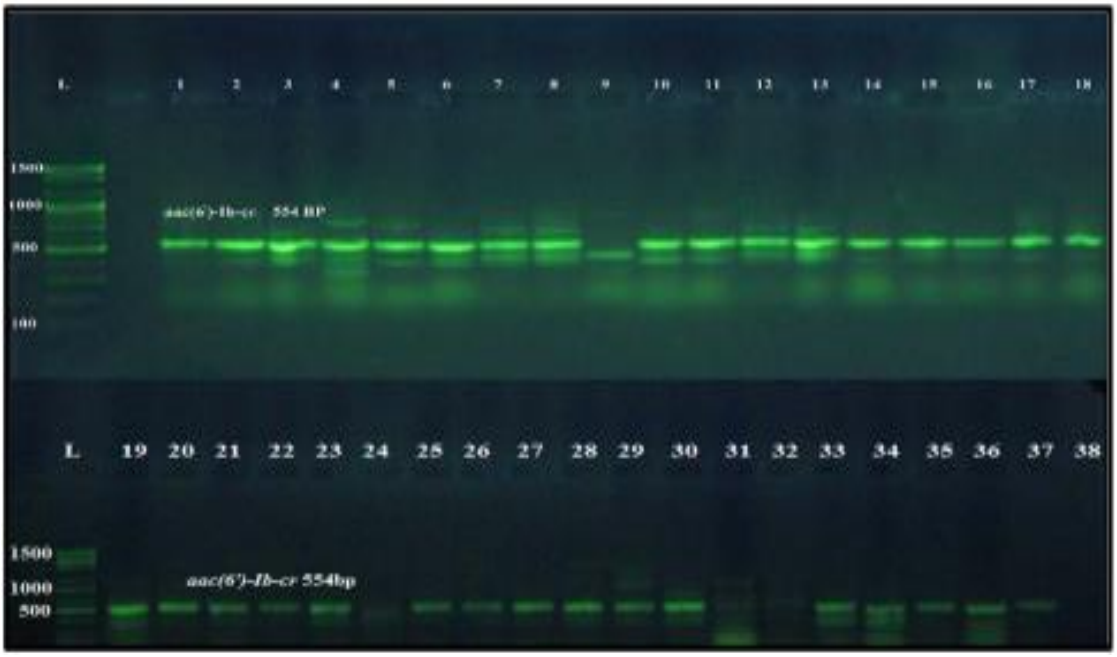
Şekil 4.5 Multipleks PCR ürünleri Bla CTX-M-2 341 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1'den 11'e ve *E. coli*'den 12'den 18'e kadardır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA lidderi

4.2.3 *K. pneumoniae* ve *E. coli* bakterilerinde qarB ve Ib-cr genlerinin tespiti

Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'da belirtilen sonuçlar, *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarının çoğunda qarB ve Ib-cr geninin ortaya çıktığını göstermiştir. Genin bu şekilde ortaya çıkması, birden fazla plazmit türü içeren izolasyon ile bakterilerin antibiyotiklere karşı direncini gösterir ve plazmit küçük veya büyük olabilmektedir. Ana direnç özelliğidir (Liu *et al.* 2013). Bakteriler bu antibiyotiklerden kurtulmak için yeni yöntem ve araçlar kullandığından ve böylece dirençli hale geldiğinden, bu antibiyotiklerin yeni nesillerinin araştırılması gerekmektedir. Hastalık vakalarından izole edilen izolatlar antibiyotiklere karşı oldukça dirençli olduğu içindir (Navon-Venezia *et al.* 2017). Şekil 6'da belirtilen sonuçlar *K. pneumoniae* izolatlarında qarB gen ekspresyonunun %73,6 daha yüksek olduğunu göstermiştir ve *E. coli* izolatlarında, %21 iken, *K. pneumoniae* izolatlarından daha az görünmektedir. Şekil 4.8'den, *K. pneumoniae'deki* Ib-cr gen ekspresyonunun da %71 oranında yüksek olduğunu fark ettik, *E. coli* izolatlarında ise %18,4 iken *K. pneumoniae* izolatlarına göre daha az görülmüştür.



Şekil 4.6 Multipleks PCR ürünleri qarB 469 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 38 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA lidderi



Şekil 4.7 Multipleks PCR ürünleri Ib-cr - 554 bp. *K. pneumoniae* izolatları 1 ila 28 ve *E. coli* 29 ila 38 arasındadır. Elektroforez, 70 voltta %2 agaroz jel içinde yapılmıştır. M, 100-bp DNA lidderi

4.3 Değerlendirme

4.3.1 *E. coli*

Çalışmamız kapsamında yürütülen deneyler sonucunda *E. coli* suşlarının virulans faktörlerinden fimA ile GSBL oluşturan genlerden CTX-M'in ilişkili olduğu, GSBL pozitif ve negatif suşlarda aynı anda birden fazla virulans faktörünün bulunabileceği, GSBL pozitif suşlarda CTX-M geni ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunduğu bu genin GSBL negatif suşların hiç birinde saptanmadığı görülmektedir. CTX-M geninin betalaktam grubu antibiyotiklere direnç gelişiminde daha baskın olduğu görülmektedir.

4.3.2 *K. pneumoniae*

Çalışmamız kapsamında yürütülen deneyler sonucunda *K. pneumoniae* suşlarının B-laktamaz genleri (blaTEM, blaSHV, ve blaCTX-M) direnç genlerinin yüksek prevalansı ile *K. pneumoniae* suşlarının--laktam ve kinolon antimikrobiyallerine artan direnci arasında pozitif ilişki olduğu görülmektedir. Öte yandan, *K. pneumoniae* suşlarında dirençle ilişkili farklı gen üretiminin varlığını saptamak için fenotipik ve genotipik yöntemlere ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Abraham E. P., Chain E. 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature 146:837.

Ahmadi, M., Behzadi, P., & Ranjbar, R. 2021. Virulence Factors, Antibiotic Resistance patterns, and Molecular Types of Clinical Isolates of Klebsiella Pneumoniae.

Ahmed, N. A., Mahmood, S. S. ve Abbas, A. H. 2019. A comparatıve study of some vırulence factors and phylogenetıc charactrızatıon of Escherichia coli ısolates causıng urınary tract ınfectıon and the commensal gut mıcrobıota. Iraqi Journal of Agricultural Sciences , 50, 1193-1198.

Ahmed, O. B., Omar, A. O., Asghar, A. H., Elhassan, M. M., Al-Munawwarah, A. M., & Arabia, S. 2013. Prevalence of TEM, SHV and CTX-M genes in Escherichia coli and Klebsiella spp Urinary Isolates from Sudan with confirmed ESBL phenotype. Life Sci J, 10, 191-5.

Al-Wali, W., Hamilton-Miller, J. M., Joshi, S. & Brumfitt, W., 1989. A case of recurrently sexually transmitted urinary tract infection. Genitourin. Med. 65, 397–398

Atyia Hammoudi, A. 2014. Antibacterial susceptibility patterns of Klebsiella pneumoniae isolates from vaginitis cases of pregnant women in Baghdad city. Al-Qadisiah Medical Journal, 10, 196-203.

Bader M. S., Hawboldt, J., 2010. Brooks A. Management of complicated urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. Postgrad Med; 122, 7–15.

Bailey, R. R., Peddie, B. A., Swainson, C. P. & Kirkpatrick, D. 1986. Sexual acquisition of urinary tract infection in a man. Nephron 44, 217–218

Bajpai, T., Pandey, M., Varma, M., & Bhatambare, G. S. 2017. Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M Beta-Lactamase genes in the urinary isolates of a tertiary care hospital. Avicenna journal of medicine, 7, 12.

Bergeron, C. R., Prussing, C., Boerlin, P., Daignault, D., Dutil, L., Reid-Smith, R. J., George G. Zhanel, and Amee R. & Manges, A. R. 2012. Chicken as reservoir

for extraintestinal pathogenic Escherichia coli in humans, Canada. Emerging infectious diseases, 18, 415.

Bin-Asif, H., ve Ali, S. A. 2019. The Genus Enterococcus and Its Associated Virulent Factors. In Microorganisms. Intech Open.

Bush, K. 2013a. Proliferation and significance of clinically relevant β-lactamases. Annals of the New York Academy of Sciences, 1277, 84-90.

Bush, K. 2013b. The ABCD's of β-lactamase nomenclature. Journal of Infection and Chemotherapy, 19, 549-559.

Bush, K., & Jacoby, G. A. 2010. Updated functional classification of β-lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy, 54, 969-976.

Cambray, G., Guerout, A., Mazel, 2010. The Integrons. Annual Review of Genetics. 44, 141-1465.

Collis C. M., & Hall R.M. 1992. Gene cassettes from the insert region of integrons are excised as covalently closed circles. Molecular Microbiology, 6, 2875-2885.

Collis, C. Kim, M., Partridge, S.; Stokes, H.; Hall, R. 2002. Characterization of the Class 3 Integron and the Site-Specific Recombination System it Determines. Journal of Bacteriology. 184, 3017-3026.

D'Costa V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W., Schwarz, C., Froese, D., Zazula, G., Calmels, F., Debruyne, R., Golding, G. B., Poinar, H. N., Wright, G. D. 2011. Antibiotic resistance is ancient. Nature 477:457–461

Daza, R., Gutierrez, J., Piedrola, G., 2001. Antibiotic susceptibility of bacterial trains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents;18:211–5.

DeBusscher, J., Zhang, L., Buxton, M., Foxman, B. & Barbosa-Cesnik, C. 2009. Persistent extended-spectrum β-lactamase urinary tract infection. Emerg. Infect. Dis. 15, 1862–1864.

Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M. L. & Relman, D. A. 2008. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rrNA sequencing. PLoS Biol. 6, e280.

Doi, Y., Adams, J., O'Keefe, A., Quereshi, Z., Ewan, L., & Paterson, D. L. 2007. Community-acquired extended-spectrum β-lactamase producers, United States.

Doménech-Sánchez A, Martínez-Martínez L, Hernández-Allés S, del Carmen Conejo M, Pascual A, Tomás JM, Albertí S, Benedí VJ. 2003. Role of Klebsiella pneumoniae OmpK35 porin in antimicrobial resistance. Antimicrob Agents Chemother 47, 3332–3335.

Dönhöfer A, Franckenberg S, Wickles S, Berninghausen O, Beckmann R, Wilson DN. 2012. Structural basis for TetM-mediated tetracycline resistance. Proc Natl Acad Sci USA 109, 16900–16905.

Ferry, S. A., Holm, S. E., Stenlund, H., Lundholm, r. & Monsen, T. J. 2007. Clinical and bacteriological outcome of different doses and duration of pivmecillinam compared with placebo therapy of uncomplicated lower urinary tract infection in women: the LUTIW project. Scand. J. Prim. Health Care 25, 49–57

Flores-Mireles A. L., Walker J. N., Caparon M., Hultgren S. J., 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*.;13, 269-284. doi:10.1038/nrmicro3432.

Foxman, B. 2002a. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *The American journal of medicine*, *113*, 5-13.

Foxman, B. 2003. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Disease-a-month*, *49*, 53-70.

Foxman, B. 2010. The epidemiology of urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*, *7*(12), 653-660.

Foxman, B., Gillespie, B., Koopman, J., Zhang, L., Palin, K., Tallman, P., & Marrs, C. F. 2000. Risk factors for second urinary tract infection among college women. American journal of epidemiology, 151(12), 1194-1205.

Foxman, B., Manning, S. D., Tallman, P., Bauer, R., Zhang, L., Koopman, J. S., & Marrs, C. F. 2002b. Uropathogenic Escherichia coli are more likely than commensal E. coli to be shared between heterosexual sex partners. American journal of epidemiology, 156(12), 1133-1140.

Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. 2017. Antibiotic resistance. Journal of infection and public health, 10(4), 369-378.

Gillings, M.; Boucher, Y.; Labbate, M.; Holmes, A.; Krishnan, S.; Holley, M.; Stokes, H. 2008 The Evolution of de class 1 Integrons and Rise of Antibiotic Resistance. Journal of Bacteriology. 190(14): 5095-5100

Guo, Q., Shen, N., Yuan, K., Li J., Wu, H., Zeng, Y., Fox, J 3rd, Bansal A. K., Singh, B. B., Gao, H., Wu, M. 2012. Caveolin-1 plays a critical role in host immunity against Klebsiella pneumoniae by regulating STAT5 and Akt activity, Eur J Immunol 2012; 42(6):1500- 1511.

Hancock, R. E., Brinkman, F. S., 2002. Function of pseudomonas porins in uptake and efflux. Annu Rev Microbiol 56:17–38.

Hawn, T. R., Scholes, D., Li, S. S., Wang, H., Yang, Y., Roberts, P. L., & Hooton, T. M. 2009a. Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility to urinary tract infections in adult women. PloS one, 4(6), e5990.

Hawn, T. R., Scholes, D., Wang, H., Li, S. S., Stapleton, A. E., Janer, M., & Hooton, T. M. 2009b. Genetic variation of the human urinary tract innate immune response and asymptomatic bacteriuria in women. PloS one, 4(12), e8300.

Heidler, S., Deveza, C., Temml, C., Ponholzer, A., Marszalek, M., Berger, I., & Madersbacher, S. 2007. The natural history of lower urinary tract symptoms in females: analysis of a health screening project. European urology, 52(6), 1744-1750.

Henriques, I & Fonseca, E. 2006. Occurrence and diversity of integrons and B-lactamase genes among ampicillin-resistant isolates from estuarine waters. Research in Microbiology. 157(10): 938-947.

Holzs, P. H. 2019. Anatomy and physiology of reptile renal system. Renal Disease, an Issue of Veterinary Clinics of North America: exotic animal practice. E-Book. Elsevier Health Sciences, 103-115.

Hooton, T. M., Bradley, S. F., Cardenas, D. D., Colgan, R., Geerlings, S. E., Rice, J. C., Sanjay Saint, Anthony J. Schaeffer, Paul A. Tambayh, Peter Tenke, Lindsay E. & Nicolle, L. E. 2010. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. Clinical infectious diseases, 50(5), 625-663.

Hooton, T. M., Scholes, D., Hughes, J. P., Winter, C., Roberts, P. L., Stapleton, A. E., & Stamm, W. E. 1996. A prospective study of risk factors for symptomatic urinary tract infection in young women. New England journal of medicine, 335(7), 468-474.

Huang, W. C., Wann, S. R., Lin, S. L., Kunin, C. M., Kung, M. H., Lin, C. H., & Lin, T. W. 2004. Catheter-associated urinary tract infections in intensive care units can be reduced by prompting physicians to remove unnecessary catheters. Infection Control & Hospital Epidemiology, 25(11), 974-978.

Jena, J., Sahoo, R. K., Debata, N. K., & Subudhi, E. 2017. Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections in adults. 3 Biotech, 7(4), 1-7.

Johnson, C. C., 1991. Definitions, classification, and clinical presentation of urinary tract infections. Med. Clin. North Am. 75, 241–252.

Kareem, R. A., & Khudaier, B. Y. 2016. Molecular Detectıon Of Tem Gene In Escherıchıa Colı O157: H7 Isolated From Chıldren And Buffaloes In Basrah Provınce. Basrah Journal of Veterinary Research, 15(3).

Kaur, M., & Aggarwal, A. 2013. Occurrence of the CTX-M, SHV and the TEM genes among the extended-spectrum β-lactamase producing isolates of Enterobacteriaceae in a tertiary care hospital of North India. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR, 7(4), 642.

Kirsten Nunez, 2019. Gerhard Whitworthhttps://www.healthline.com/health/klebsiella-pneumonia .

Kurtaran, B., Candevir, A., Tasova, Y., Kibar, F., Inal, A. S., Komur, S., & Aksu, H. S. Z. 2010. Antibiotic resistance in community-acquired urinary tract infections: prevalence and risk factors. Medical Science Monitor, 16(5), CR246-CR251.

Laupland, K. B., Ross, T., Pitout, J. D., Church, D. L. & Gregson, D. B. 2007. Community-onset urinary tract infections: a population-based assessment. Infection 35, 150–153.

Li, W., Atkinson, G. C., Thakor, N. S., Allas, U., Lu, C. C., Chan, K. Y., Tenson, T., Schulten, K., Wilson, K. S., Hauryliuk, V., Frank, J., 2013. Mechanism of tetracycline resistance by ribosomal protection protein Tet(O). Nat Commun 4:1477

Li, X., Zhou, X., Ye, Y., Li, Y., Li, J., Privratsky, B., Wu, E., Gao, H., Huang, C., Wu, M., 2014. Lyn regulates inflammatory responses in Klebsiella pneumoniae infection via the p38/NF-κB pathway, Eur J Immunol 2014; 44(3): 763-773.

Little, P., Merriman, R., Turner, S., Rumsby, K., Warner, G., Lowes, J. A., & Moore, M. V. 2010. Presentation, pattern, and natural course of severe symptoms, and role of antibiotics and antibiotic resistance among patients presenting with suspected uncomplicated urinary tract infection in primary care: observational study. Bmj, 340.

Liu, B. T., Yang, Q. E., Li, L., Sun, J., Liao, X. P., Fang, L. X., Yang S. S., Hui Deng H., Liu Y. H., & Liu, Y. H. 2013. Dissemination and characterization of plasmids carrying oqxAB-bla CTX-M genes in Escherichia coli isolates from food-producing animals. PloS one, 8(9), e73947.

Lundstedt, A. C., Leijonhufvud, I., Ragnarsdottir, B., Karpman, D., Andersson, B., & Svanborg, C. 2007. Inherited susceptibility to acute pyelonephritis: a family study of urinary tract infection. The Journal of infectious diseases, 195(8), 1227-1234.

Madeb, R., Golijanin, D., Knopf, J., Davis, M., Feng, C., Fender, A., & Messing, E. M. 2010. Long-term outcome of patients with a negative work-up for asymptomatic microhematuria. Urology, 75(1), 20-25.

Maki, D. G. & Tambyah, P. A., 2001. Engineering out the risk for infection with urinary catheters. Emerg. Infect. Dis. 7, 342–347.

Manson, J. M., Hancock, L. E., Gilmore, M. S., 2010. Mechanism of chromosomal transfer of Enterococcus faecalis pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits. Proc Natl Acad Sci USA 107:12269–12274.

Mayoclinic, 2020. Urinary Tract Infection (UTI), https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/urinary-tract-infection/symptoms-causes/syc-20353447

Michael, C., & Labbate, M., 2010. Gene cassette transcription in a large integron-associated array. BMC Genetics, 11, 82.

Mody, L., Juthani-Mehta, M., 2014. Urinary tract infections in older women: a clinical review, JAMA 2014; 311(8): 844-854.

Muniesa, M., Hammerl, J. A., Hertwig, S., Appel, B., & Brüssow, H. 2012. Shiga toxin-producing Escherichia coli O104: H4: a new challenge for microbiology. *Applied and environmental microbiology*, *78*(12), 4065-4073.

Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K., & Carattoli, A. 2017. Klebsiella pneumoniae: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. FEMS microbiology reviews, 41(3), 252-275.

Neu, H. C. 1992. The crisis in antibiotic resistance. Science, 257(5073), 1064-1073.

Nicolle, L. E. 2000. Asymptomatic bacteriuria—important or not? N. Engl. J. Med. 343, 1037–1039.

Nicolle, L. E. 2005. Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. Clin. Infect. Dis. 40, 643–654.

Nikaido H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Rev 67:593–656.

O'Neill, P. M., Talboys, C. A., Roberts, A. P. & Azadian, B. S. 1990. The Rise and fall of Escherichia coli O15 in a London teaching hospital. J. Med. Microbiol. 33, 23–27.

Özgen, C. 2007. Isolatıon, Molecular Characterızatıon Of Food-Borne Drug Resıstant Salmonella Spp. And Detectıon of Class 1 Integrons (Doctoral Dissertation, Mıddle East Technıcal Unıversıty).

Pagès JM, James CE, Winterhalter M. 2008. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. Nat Rev Microbiol 6:893–903.

Peirano, G., Richardson, D., Nigrin, J., McGeer, A., Loo, V., Toye, B., & Pitout, J. D. 2010. High prevalence of ST131 isolates producing CTX-M-15 and CTX-M-14 among extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli isolates from Canada. Antimicrobial agents and chemotherapy, 54(3), 1327-1330.

Perez F, Endimiani A, Hujer K. M., Bonomo, R. A. 2007. The continuing challenge of ESBLs. Curr Opin Pharmacol;7:459–69.

Pérez-Pérez, F. J., & Hanson, N. D. 2002. Detection of plasmid-mediated AmpC β-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. Journal of Clinical Microbiology, 40(6), 2153–2162.

Piddock, L. J., 2006. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. Clin Microbiol Rev 19: 382–402.

Pitout, J. D. 2010. Infections with extended-spectrum β-lactamase-producing enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. Drugs 70, 313–333.

Pitout, J. D., Sanders, C. C., Sanders, Jr, W. E., 1997. Antimicrobial resistance with focus on beta-lactam resistance in Gram negative bacilli. Am J Med;103:51–9.

Pogliano, J., Pogliano, N., Silverman, J. A., 2012. Daptomycin-mediated reorganization of membrane architecture causes mislocalization of essential cell division proteins. J Bacteriol 194: 4494–4504.

Ramirez, M. S., Tolmasky, M. E., 2010. Aminoglycoside modifying enzymes. Drug Resist Updat 13:151–171.

Rana, A., Dasgupta, R., (Ed), 2013. Urinary Tract Infection Clinical Perspectives on Urinary Tract Infection, Springer, London.

Rosen, D. A., Hooton, T. M., Stamm, W. E., Humphrey, P. A. & Hultgren, S. J. 2007. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. PLoS Med. 4, e329

Rubin, R. H., Shapiro, E. D., Andriole, V. T., Davis, R. J. & Stamm, W. E. 1992. Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. Infectious Diseases Society of America and the Food and Drug Administration. Clin. Infect. Dis. 15 (Suppl. 1), S216–S227

Saint, S. 2000.Clinical and economic consequences of nosocomial catheter-related bacteriuria. Am. J. Infect. Control 28, 68–75.

Sanchez, G. V., Master, R. N., Karlowsky, J. A., & Bordon, J. M. 2012. In vitro antimicrobial resistance of urinary Escherichia coli isolates among US outpatients from 2000 to 2010. Antimicrobial agents and chemotherapy, 56(4), 2181-2183.

Schaberg, D. R., Weinstein, R. A., & Stamm, W. E. 1976. Epidemics of nosocomial urinary tract infection caused by multiply resistant gram-negative bacilli: Epidemiology and control. The Journal of infectious diseases, 133(3), 363-366.

Schito, G. C., Naber, K. G., Botto, H., Palou, J., Mazzei, T., Gualco, L., & Marchese, A. 2009. The ARESC study: an international survey on the antimicrobial

resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections. International journal of antimicrobial agents, 34(5), 407-413.

Schmiemann, G., Kniehl, E., Gebhardt, K., Matejczyk, M. M. & Hummers-Pradier, E. 2010. The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. Dtsch Arztebl. Int. 107, 361–367

Sheinfeld, J., Schaeffer, A. J., Cordon-Cardo, C., Rogatko, A. & Fair, W. R. 1989. Association of the Lewis blood-group phenotype with recurrent urinary tract infections in women. N. Engl. J. Med. 320, 773–777

Shepard, B. D., & Gilmore, M. S. 2002. Differential expression of virulence-related genes in Enterococcus faecalis in response to biological cues in serum and urine. Infection and immunity, 70(8), 4344-4352.

Shon, A. S., Bajwa, R. P., & Russo, T. A. 2013. Hypervirulent (hypermucoviscous) Klebsiella pneumoniae: a new and dangerous breed. *Virulence*, *4*(2), 107-118.

Singh, K. V., Weinstock, G. M., Murray, B. E., 2002. An Enterococcus faecalis ABC homologue (Lsa) is required for the resistance of this species to clindamycin and quinupristin–dalfopristin. Antimicrob Agents Chemother 46:1845–18450

Song, J. & Abraham, S. N. 2008. Innate and adaptive immune responses in the urinary tract. Eur. J. Clin. Invest. 38 (Suppl. 2), 21–28.

Stamm, W. E. 2002. Scientific and clinical challenges in the management of urinary tract infections. Am. J. Med. 113 (Suppl. 1A), 1S–4S.

Stamm, W. E., McKevitt, M., Roberts, P. L. & White, N. J. 1991. Natural history of recurrent urinary tract infections in women. Rev. Infect. Dis. 13,77–84

Stokes, H. W., & Gillings, M. R. 2011. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. FEMS microbiology reviews, 35(5), 790-819.

Struve, C., Roe, C. C., Stegger, M., Stahlhut, S. G., Hansen, D. S., (2015). Engelthaler DM, Andersen PS, Driebe EM, Keim P, Krogfelt KA. Mapping the evolution of hypervirulent Klebsiella pneumoniae, MBio 2015; 6(4): e00630.

Sundqvist, M., Geli, P., Andersson, D. I., Sjölund-Karlsson, M., Runehagen, A., Cars, H., ... & Kahlmeter, G. (2010). Little evidence for reversibility of trimethoprim resistance after a drastic reduction in trimethoprim use. Journal of antimicrobial chemotherapy, 65(2), 350-360.

Tambyah, P. A., & Maki, D. G. 2000a. Catheter-associated urinary tract infection is rarely symptomatic: a prospective study of 1497 catheterized patients. Archives of internal medicine, 160(5), 678-682.

Tambyah, P. A., & Maki, D. G. 2000b. The relationship between pyuria and infection in patients with indwelling urinary catheters: a prospective study of 761 patients. Archives of internal medicine, 160(5), 673-677.

Tang, K. K., Wong, C. K., Lo, S. F. & Ng, T. K. 2005. Is it necessary to catheterise the bladder routinely before gynaecological laparoscopic surgery? Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol. 45, 380–383.

Tempera, G., Furneri, P. M., Cianci, A., Incognito, T., Marano, M. R., & Drago, F. 2009. The impact of prulifloxacin on vaginal lactobacillus microflora: an in vivo study. Journal of Chemotherapy, 21(6), 646-650.

Thomas, C. M., Nielsen, K. M., 2005. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. Nat Rev Microbiol 3:711–721.

Tomson, C. & Porter, T. 2002. Asymptomatic microscopic or dipstick haematuria in adults: which investigations for which patients? A review of the evidence. BJU Int. 90, 185–198.

Vincent, C., Boerlin, P., Daignault, D., Dozois, C. M., Dutil, L., Galanakis, C., & Manges, A. R. 2010. Food reservoir for Escherichia coli causing urinary tract infections. Emerging infectious diseases, 16(1), 88.

Warren, J. W., Abrutyn, E., Hebel, J. R., Johnson, J. R., Schaeffer, A. J., & Stamm, W. E. 1999. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute

bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Clinical Infectious Diseases, 29(4), 745-759.

Weichhart, T., Haidinger, M., Hörl, W. H. & Säemann, M. D. 2008. Current concepts of molecular defence mechanisms operative during urinary tract infection. Eur. J. Clin. Invest. 38 (Suppl. 2), 29–38

Wilson, D. N., 2014. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. Nat Rev Microbiol 12:35–48.

Wollin, T., Laroche, B. & Psooy, K. 2009. Canadian guidelines for the management of asymptomatic microscopic hematuria in adults. Can. Urol. Assoc. J. 3, 77–80.

Zhan, L, Wang S, Guo Y, Jin Y, Duan J, Hao Z, Lv J, Qi X, Hu L, Chen L, Kreiswirth B. N., Zhang, R., Pan J, Wang L, Yu F. 2017. Outbreak by hypermucoviscous Klebsiella pneumoniae ST11 isolates with carbapenem resistance in a tertiary hospital in China, Front Cell Infect Microbiol; 7:182.

Zhang, T, Muraih J. K., Tishbi N, Herskowitz J, Victor RL, Silverman J, Uwumarenogie S, Taylor S. D, Palmer M, Mintzer E. 2014. Cardiolipin prevents membrane translocation and permeabilization by daptomycin. J Biol Chem 289:11584–11591.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Wasan Jasim Mohammed AL-MAHFOODH

Yabancı Dili : Arapça / Türkçe/ İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : AL-REJAA Lisesi (1996 - 1997)

Lisans : Anbar Üniversitesi (2000 - 2001)

Yüksek Lisans : Çankırı Karatekin Üniversitesi (2019 – 2020)