ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KADINLARDA ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARINDAN ÜROPATOJENLERİ OLUŞTURAN BİYOFİLMİN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Sumaya Jabbar Kariem ASKAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sumaya Jabbar Kariem ASKAR tarafından hazırlanan **"Kadınlarda Üriner Sistem Enfeksiyonlarından Üropatojenleri Oluşturan Biyofilmin İzolasyonu, Tanımlanması ve Moleküler Karakterizasyonu"** adlı tez çalışması 25/04/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL

Eş Danışman : Prof. Dr. Asal Aziz TAWFEEQ

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi. Aysel SARI
Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı
Fırat Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

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

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Kadınlarda Üriner Sistem Enfeksiyonlarından Üropatojenleri Oluşturan Biyofilmin İzolasyonu, Tanımlanması ve Moleküler Karakterizasyonu**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (01/01/2022).

Sumaya Jabbar Kariem ASKAR

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KADINLARDA ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARINDAN ÜROPATOJENLERİ OLUŞTURAN BİYOFİLMİN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Sumaya Jabbar Kariem ASKAR

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Eş Danışman: Prof. Dr. Asal Aziz TAWFEEQ

Çalışma, kadınlarda en yaygın biyofilm oluşturan üropatojenleri izole etmek ve tanımlamak için yapılmıştır. Bu çalışma ırak – kerkük ilinde kadın doğum ve çocuk hastanesinde Ekim 2020 ve Mart 2021 tarihleri arasında farklı yaş gruplardaki ve farklı bölgelerdeki kadınlardan alınan 124 idrar örenği alınarak gerçekleştirilmiştir. İzole edilen bakterilerde biyofilm oluşumu araştırılmıştır. En çok biyofilm üropatojen pervalansı olarak *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumonia* de gözlemlendi. Biyofilm oluşturan üropatojen izolatların antibiyotiklere karşı dirençlerini tanımlamak için antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. İzole edilmiş *E. coli* ve *K. pneumonia* suşu, yüksek bir biyofilm aktivitesi gösterdiğinden, ilk önce üropatojenlerin karakterizasyonunu doğrulamak ve daha sonra biyofilm oluşumundan sorumlu genleri saptamak için moleküler analize tabi tutulmuşlardır. İki izole suş, 16SrRNA gen dizisinin (1500 bp) ürün boyutunda iki amplikon göstermiştir. Buna göre, iki suş, NCBI'de E. coli izolatı için MZ647704 ve *K. pneumoniae* izolatı için MZ647716 erişim numarası altında tescil edilmiştir. Ayrıca iki genin (fimH ve mrkD) analiz edilmesi önerilmiş ve genlerin DNA amplifikasyonu yoluyla gen saptama işlemi gerçekleştirilmiştir. Biyofilm Tedavilerinde Bakteriyofajlarla ilgili yeni çalışmalar ve ileri teknikler yapılmalıdır.

2022, 105 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: İYE, Biyofilm, *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia,* Moleküler karakterizasyon

ABSTRACT

Master of Science Thesis

ISOLATİON, IDENTIFICATION AND MOLECULAR CHARACTERIATION OF BIOFILM FORMING UROPATHOGENS FROM URINARY TRACT INFECTIONS IN WOMEN

Sumaya Jabbar Kariem ASKAR

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

Advisor: Asst. Dr. İlkay ÇORAK ÖCAL
Co-Advisor: Prof. Dr. Asal Aziz TAWFEEQ

This study was conducted to isolate and identify the most common biofilm-forming uropathogens in women. This study was carried out by collecting 124 urine samples from women in different age groups and regions between October 2020 and March 2021 in a maternity and children's hospital in Iraq - Kirkuk . All isolated bacteria were subjected to biofilm assay and results displayed the prevalence of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* as the most biofilm uropathogene in the samples. Then, all of the identified bacterial strains were subjected to antibiotic susceptibility test (AST) in order to determine the impact of biofilm formation on the antibiotic resistant pattern of the uropathogenic isolates. Two isolated strains of *E. coli* and *K. pneumonia* showed an increased biofilm activity. Therefore, they were subjected for molecular analysis in order firstly to confirm the characterization of the uropathogenes and secondly to detect the genes responsible for the biofilm formation. The two isolated strains showed two amplicons of product size of (1500 bp) of 16SrRNA gene sequence. In accordance, the two strains were registered in the NCBI under the accession number of MZ647704 for *E. coli* isolate, and MZ647716 for *Klebsiella pneumoniae* isolate. More over, two genes (fimH and mrkD) were suggested to be analyzed and gene detection procedure was carried out through DNA amplification of the genes. New trends in Antibiofilm Treatments like studies about Bacteriophages should be applied for further studies about biofilm treatment .

2022, 105 pages

Keywords: UTI, Biofilm, *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia,* Molecular characterization

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bana desteklerini esirgemeyen hocalarım Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL ve Prof. Dr. Asal Aziz TAWFEEQ'e teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamda bana destek olan aileme teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Kerkük şehri halk sağlığı laboratuvarı ve Doğum, Kadın Hastalıkları ve Çocuk Hastanesi'ndeki tüm çalışanlara destekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Sumaya Jabbar Kareim ASKAR

Çankırı, Nisan 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **x**
1 GİRİŞ **1**
2 LİTERATÜR ÖZETİ **4**
2.1 İdrar Yolu Enfeksiyonu **4**
2.2 Kadınlarda İdrar Yolu Enfeksiyonu **5**
2.2.1 Kadınlarda idrar yolu enfeksiyonunun epidemiyolojisi **6**
2.3 İdrar Yolu Enfeksiyonunun Üropatojenleri **7**
2.3.1 İdrar yolu enfeksiyonlarının patojenleri **7**
2.4 İdrarda En Çok Karşılaşılan Bakteri **8**
2.4.1 *Escherichia coli* **8**
2.4.2 *Klebsiella pnemoniae* **13**
2.4.3 *Pseudomonas aeruginosa* **15**
2.4.4 İdrar yolu enfeksiyonlarındaki *Proteus mirabilis* **17**
2.4.5 İYE'deki *Staphylococcus aureus* **19**
2.4.6 *Enterococcus faecalis* **21**
2.5 Biyofilm **22**
2.5.1 Bakteriyel biyofilmin ortaya çıkışı **22**
2.5.2 Biyofilmlerin oluşumu ve İYE'ler **23**
2.5.3 Biyofilmler ve tekrarlayan enfeksiyonlar **24**
2.5.4 *E. coli* tarafından biyofilm oluşumu **24**
2.5.5 *K. pneumonia* tarafından biyofilm oluşumu **25**
2.5.6 *E. coli* ve *K. pneumonia* tarafından oluşturulan biyofilmlerden sorumlu genler **25**

2.6 Antibiyotik Direnci 26
2.6.1 Biyofilmler ve antimikrobiyal direnç 26
3 MATERYAL VE METOT 33
3.1 Materyal 33
3.1.1 Aparat 33
3.1.2 Kimyasallar ve ayıraçlar 33
3.1.3 Kitler 34
3.1.4 Kültür medyası 35
3.1.5 Antibiyotik diskleri 35
3.1.6 Gen belirlemede kullanılan primerler ve 16s rRNA 36
3.2 Metot 36
3.2.1 Sterilizasyon yöntemleri 36
3.2.2 Kültür ortamının hazırlanması 37
3.2.3 Numune toplanması 38
3.2.4 İdrar analizi 39
3.2.5 Üropatojenlerin karakterizasyonu 39
3.2.6 Biyofilmlerin karakterizasyonu 44
3.2.7 Moleküler karakterizasyon 49
4 BULGULAR 55
4.1 Numune Toplama 55
4.2 Üropatojenlerin Karakterizasyonu 56
4.2.1 İdrar numunesinin ekimi 56
4.2.2 Biyokimyasal testler 58
4.2.3 API sistemi ile bakteri tanımlanması 58
4.3 Biyofilmlerin Karakterizasyonu 60
4.3.1 Biyofilm oluşumunun tanımlanması 60
4.4 Antibiyotik Duyarlılık Testi (AST) 62
4.5 *E.coli* ve *K. pneumonia* için 16S rRNA'nın moleküler belirlenmesi 64
4.6 Gerçek Zamanlı PCR Yoluyla *E. coli* ve *K. Pneumoniaea*'daki Genlerin (fimH ve mrkD) Moleküler Belirlemesi 68
5 SONUÇ VE TARTIŞMA 72
KAYNAKLAR 78

EKLER.....101
ÖZGEÇMİŞ.....105

SİMGELER DİZİNİ

µL	Mikrolitre
^{0}C	Santigrat derece
dk.	Dakika
g	Gram
sn	Saniye

KISALTMALAR DİZİNİ

AST	Antibiyotik hassasiyet testi
BAPs	Kan agar plakalar
CDC	Hastalık kontrol ve engelleme merkezleri
DNA	Deoksiribonükleik Asit
E. coli	Escherichia coli
EHEC	Enterohemorajik Escherichia coli
ESBL	Genişletilmiş spektrum β-laktamaz
ExPEC	Bağırsak dışı suşlar
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
LPS	Lipopolisakkarit
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
P. mirabilis	Proteus mirabilis
PBS	Fosfat tampon salin
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RT-PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz zincir reaksiyonu
S. aureus	Staphylococcus aureus
TSA	Triptik soya agar
TSB	Tripton Soya suyu
UPEC	Üropatojenik Escherichia coli

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Escherichia coli yapıştırıcıları ve taşıyıcı/hareketli yapı (Maria *et al.* 2017). 11
Şekil 2.2 Biyofilm oluşum aşamaları (Maria *et al.* 2013) 22
Şekil 3.1 PI 20 E (Analytical Profile Index) 43
Şekil 3.2 Vitek2 kompakt sistem (Biomerieux, Fransa) çalışmada kullanılan 45
Şekil 3.3 Bulanıklık ölçeri göstermektedir (DensiChekTM) 46
Şekil 3.4 Bu çalışmada kullanılan VITEK AST – N222 kartları (Biomerieux, Fransa) 46
Şekil 4.1 MacConkey ve kanlı agarda bakteri koloni görünümü 56
Şekil 4.2 Manitol tuz agarınd Staphylococcus aureus görünümü. 57
Şekil 4.3 API 20 E sistemi ile bakterinin tanımlanması 59
Şekil 4.4 API STAPH sistemi ile bakterilerin tanımlanması 59
Şekil 4.5 Mikrotiter plaka yöntem ile biyofilm formasyonu 60
Şekil 4.6 Kırmızıdan, koyu kırmızı ve siyaha kadar değişen üç değişik belirgin renkli Kongo kırmızı agardaki *Staphylococcus spp. E.coli ve K. pneumoniae* 61
Şekil 4.7 Biyofilmin saptamasında Tüp Yöntemi 61
Şekil 4.8 Antibiyotik duyarlılık testi 62
Şekil 4.9 Eth Br. M: 100 merdiven işaretleyici ile boyanmış % 1 agaroz jel elektroforezi üzerinde fraksiyone edilmiş *E. coli* ve *K. pneumonia* izole suşlarının 16s RNA geninin amplifikasyonunun sonuçlarını gösteren jel 65
Şekil 4.10 Numune 1K DNA (*Klebsiella pneumoniae*) kısmı genomik sekanslanmasının veri analizi 65
Şekil 4.11 Numune 1K DNA (*E. coli*) kısmi genomic sekanslamasının very analizi 66
Şekil 4.12 Temmuz 2021 itibariyle NCBI GenBank'daki Escherichia coli suşu SIA1 16S Ribozom RNA kısmi gen sekans kayıtları. 67
Şekil 4.13 Temmuz 2021 itibariyle NCBI GenBank'daki *Klebsiella pneumoniae* suşu SIA1 16S Ribozom RNA kısmi gen sekans kayıtları. 67
Şekil 4.14 (a) *E. coli* SIA1 suşu (1349 bp) 16SrRNA Lineer gen grafiği (b) *K. Pneumoniae* SIA1 suşu (1402 bp) 16SrRNA Lineer gen grafiği 68
Şekil 4.15 MicPCR versiyon 2.10.0 tarafından yaratılan 40 döngü sonrasında ölçülen *E. coli* ve *K. pneumonia* için (fimH) geninin gerçek zamanlı bir PCR yükseltme eğrisinin eşik seviyesi ve Cq değeri. 69
Şekil 4.16 MicPCR versiyon 2.10.0 tarafından yaratılan 40 döngü sonrasında ölçülen *E. coli* ve *K. pneumonia* için (mrkD) geninin gerçek zamanlı bir PCR yükseltme eğrisinin eşik seviyesi ve Cq değeri. 70

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışma sırasında kullanılan aparat. 33
Çizelge 3.2 Ayıraçlar ve Kimyasallar 33
Çizelge 3.3 Bu çalışmada kullanılan tüm kitler 34
Çizelge 3.4 Bu çalışmada kullanılan kültür ortamları 35
Çizelge 3.5 Mevcut çalışmada kullanılan antibiyotik diskler 35
Çizelge 3.6 Primerler 36
Çizelge 3.7 Kart aşılamada kullanılan süspansiyon bulanıklığı konsantrasyonları: 45
Çizelge 3.8 *E.coli* ve *K. pneumoniaea* için primer hazırlığı 16S rRNA 50
Çizelge 3.9 Reaksiyon Ayarı 51
Çizelge 3.10 Termel Döngü Protokolü 51
Çizelge 3.11 PCR Program 52
Çizelge 3.12 PCR Bileşen Hesaplama 53
Çizelge 3.13 Ana Karışımın Tanımı 53
Çizelge 3.14 Gerçek Zmanlı PCR Programı 53
Çizelge 4.1 Çalışma esnasında toplanan idrar numunelerinin mikrokobik incelemesinin sonuçları 55
Çizelge 4.2 Yaş dağılımı ile bağlantılı idrar yolu enfeksiyonları. 55
Çizelge 4.3 İzole edilen üropatojenlerinin Gram boyama ve Biyokimyasal testlerin sonuçları. 58
Çizelge 4.4 Mikrobiolojik prosedürler kulanılarak 124 adet idrar örenklerinde isole edilen 96 adet isolat türlerinin sayısı ve yüzdesi 59
Çizelge 4.5 İzole bakteri suşlarında biyofilm oluşumunun sonuçları 62
Çizelge 4.6 Üropatojin izolatların değişik antibiyotiklere karşı duyarlılıkları 63
Çizelge 4.7 Bu çalışmanın kısmı dizilimi 1E ve 1K 16S Ribozomal RNA gen dizisinin Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) kayıtlarının GenBank nükleotid dizisi ve erişim numarası. 66
Çizelge 4.8 Mevcut çalışmanın 16 izolatından micPCR versiyon 2.10.0 vasıtasıyla yaratılan (fimH ve mrkD) genlerinin Cq değerlerinin analizi. 71

1 GİRİŞ

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), yüksek insidans, tekrarlama ve mortalite oranları ile ilişkili potansiyel olarak yaşamı tehdit eden enfeksiyonlardır (Kumar and Das 2016). Genel olarak, dünya çapında yılda 150 milyon insanın, bu enfeksiyonların insidansının yetişkin kadınlarda yaşamları boyunca yılda yaklaşık (% 40 – 50) enfeksiyonda daha yüksek olduğu İYE'lerden etkilendiği tahmin edilmektedir (Sahib *et al*. 2012, Abad *et al.* 2019). Ek olarak, İYE'lerin çoğunluğunun, genellikle insanların alt bağırsaklarında bulunan ve fekal maddede bulunan ve üretraya aktarılan akut enfeksiyonda en sık enfeksiyon yapan bakteri olarak *Escherichia coli'*nin tek bir bakteri türünden kaynaklandığı bulunmuştur (Allam 2017, Shanmugam *et al*. 2017). Ayrıca, *Klebsiella pneumonia, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecalis*'in farklı suşları ve antibiyotik çeşitlerine dirençli bazı Gram pozitif bakteri türleri de dahil olmak üzere diğer bakteri suşları da idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiş olup tedaviyi çok zorlaştırmıştır (Allam 2017, Shanmugam *et al*. 2017, Abad *et al.* 2019).

Ayrıca, hastane enfeksiyonlarının yaklaşık % 65'inin, öncelikle biyofilm oluşumundan kaynaklanan antibiyotik direnci ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (Abdallah *et al*. 2011, Abad *et al*.2019). Ayrıca, biyofilmler, hücrelerin alt tabakaya geri dönüşümsüz bir şekilde bağlandığı ve içinde ürettikleri ve büyüme hızı ve gen transkripsiyonu ile ilgili olarak değiştirilmiş bir fenotip sergiledikleri hücre dışı polimerik maddelerden (EPS) oluşan bir matrise gömülü olduğu bir mikroorganizma topluluğu olarak tanımlanmıştır (Zaki 2009, Rajivgandhi *et al*. 2014, Karigoudar *et al.* 2019).

Sonuç olarak, suşları enfekte ederek biyofilm oluşumu, maddelerin difüzyonunu ve antimikrobiyallerin bağlanmasını kısıtlayacak ve biyofilm hücreleri için antimikrobiyal proteinler lizozim ve kompleman gibi büyük moleküllere karşı etkili direnç sağlayacaktır (Tarchouna *et al.* 2013, Keikha *et al*. 2018).

Dahası, üropatojenik *E. coli* (UPEC) arasında biyofilm prevalansı % 60 ila % 70 arasında değiştiğinden, *E. coli*'deki biyofilm üretiminin kolonizasyonu teşvik ettiği ve

İYE oranında artışa yol açtığı bulunmuştur (Tarchouna *et al*. 2013, Pourzare *et al.* 2017, Keikha *et al*. 2018).

Ayrıca, idrar yolu patojenlerinin antibiyotik direncinin dünya çapında yıldan yıla arttığı bilindiğinden (Karigoudar *et al.* 2019) biyofilm modelinde büyüyen mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara planktonik hücrelerden daha dirençli olduğu bulunmuştur (Vestby *et al.* 2020). Bu kolonizasyon modeli, bir biyofilmde büyüyen organizmaları inaktive etmek için yüksek antimikrobiyal konsantrasyonların gerekli olduğu insan tıbbına büyük bir yük getirmektedir (Karigoudar *et al*. 2019, Vestby *et al.* 2020).

Buna uygun olarak, son çalışmalar, üropatojenik *E. coli* (UPEC) ve *K. pneumoniae*'nin diğer bazı üropatojenik suşları, biyofilm oluşturma aktivitesi ile birlikte muhtemelen diğer virülans faktörlerine; yapışma molekülleri, örneğin pili, fimbria, lipopolisakaritler ve farklı çevresel koşullar altında bakteri yapışmasını yöneten ve biyofilmleri organize eden kapsüler polisakkaritlere sahip olabileceğini göstermiştir (Terlizzi *et al.* 2017, Saxena *et al*. 2019, Solis *et al.* 2021). Tip 1 fimbria yoluyla yüzey konak ürotelyaline yapışma, UPEC mesane enfeksiyonunun ilk adımıdır (Vega *et al*. 2021). *K. pneumoniae*'de çeşitli refakatçi pili mevcut olup tip 1 ve 3 pili içermektedir (Gomes *et al*. 2021). Tip 1 pili, mannoza duyarlı hemaglütinasyon (MSHA) fenotipi ile karakterize edilmiş olmasına rağmen tip 3 pili, tanenle muamele edilmiş kırmızı kan hücreleri (RBC'ler) ile mannoz dirençli hemaglütinasyon (MRHA) fenotipleri ile tanımlanmıştır (Rosen *et al*. 2008).

Çalışmalar, *K. pneumoniae*'nin tip 1 pilisinin UPE''ninkilerle yüksek oranda homolog olduğunu göstermiştir. Tip 1 pili, şaperon-usher yolu ile birleştirilmiş (Brinton Jr 1965) olup fimA pilin alt birimlerine sahip silindirik pilus çubuklarından ve fimF, fimG ve fimH bileşenlerine sahip küçük uçlu fibrillerden oluşan yapışkan saç benzeri liflerdir (Schroll *et al*. 2010). Laboratuar ortamındaki çalışmalar, mrk operonu tarafından kodlanan tip 3 fimbriaların endotel ve mesane epitel hücresine yapışmasına neden olduğunu ve ardından abiyotik yüzeylerde ve biyotik yüzeylerde biyofilm oluşumuna yol açtığını göstermiştir

(Cheryl *et al.* 2010). Tip 3 fimbrialar ilk olarak Klebsiella'da tanımlanmış olmasına rağmen tip 3 fimbrialar genellikle Enterobacteriaceae ailesinin diğer üyelerinde bulunmaktadır. mrk gen kümesi (mrkABCDF), kromozom veya plazmit kaynaklı olabilir (Stahlhut *et al*. 2012).

Bu çalışma, farklı yaşlardaki kadınlarda tekrarlayan İYE'ye neden olan en yaygın üropatojenik bakterileri tanımlamak ve bu patojenlerin antibiyotik direnç paternini belirlemek için yapılmıştır.

Bu bağlamda, bu çalışma aşağıdaki hedefleri gerçekleştirmeyi amaçlamaktadır:

- İYE kadın hastalardan en yaygın üropatojenik bakterilerin izolasyonu
- En yaygın üropatojenik suşların tanımlanması
- Üropatojenler arasında biyofilm oluşumunun üç yöntemle değerlendirilmesi ve biyofilm üretiminin izole bakteri suşlarının antibiyotik direnç paterni ile ilişkisinin incelenmesi.
- Çalışma sırasında izole edilen en yaygın, antibiyotiğe dirençli biyofilm oluşturan üropatojenlerin moleküler karakterizasyonu.
- İzole üropatojenik suşların genomu içindeki en yaygın biyofilm genlerinin moleküler tespiti.

2 LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 İdrar Yolu Enfeksiyonu

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerine (CDC) göre, İYE'ler tıbbi bakım gerektiren en yaygın bakteriyel enfeksiyondur (CDC 2011). Kadınların % 60 kadarı yaşamları boyunca en az bir semptomatik İYE geçirmekte olup Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kadınların yaklaşık % 10'u her yıl bir veya daha fazla semptomatik İYE atağı geçirmektedir. 18-24 yaş arası genç, cinsel açıdan aktif kadınlar en yüksek İYE insidansına sahiptir. Bu kadınların yaklaşık % 25'inde semptomlar kendiliğinden düzelmektedir (Sobel and Kaye 2014).

Üriner sistem atıkları vücuttan adışarı atar. Yüksek idrar ozmolaritesi ve asitliği idrardaki çoğu patojenin büyümesini engeller; bununla birlikte, aynı özellikler beyaz kan hücrelerinin enfeksiyonu temizlemedeki etkinliğini de azaltabilir. Bu nedenle bu idrar özellikleri bakterilerin gelişmesi için zararlı bir ortam olmasına rağmen, beyaz kan hücrelerini daha az etkili hale getirerek enfeksiyonlara karşı direnci de azaltabilir (Alonto 2007).

Klinik olarak, İYE'ler tipik olarak sağlıklı olan ve yapısal veya nörolojik üriner sistem anormallikleri olmayan bireyleri etkilemektedir (Hooton 2012, Nielubowicz and Mobley 2010). Bu enfeksiyonlar alt İYE'ler (sistit) ve üst İYE'ler (piyelonefrit) olarak ayrılmaktadır (Hooton 2012, Hannan *et al*. 2012).

Bakteriler idrar yoluna, çıkış yolu ve hematojen yol olmak üzere iki ana yoldan girebilir. İYE geliştirmenin en yaygın yolu artan rotadır. Bakteriler üretra yoluyla idrar yoluna girebilir. Üretradan bakteriler daha sonra mesaneye, üreterlere ve böbreklere yükselebilir. Kan dolaşımına giren patojenik bakteriler daha sonra böbrek parankimini enfekte ederek piyelonefrite ve hatta böbrek apsesine neden olabilir (Alonto 2007).

2.2 Kadınlarda İdrar Yolu Enfeksiyonu

İYE, sıklığı, tekrarlaması ve eradikasyonundaki zorluk nedeniyle insanlarda ciddi bir rahatsızlıktır. Anatomik ve fizyolojik nedenlerden dolayı kadınlarda erkeklere göre çok daha yaygındır. Konumu nedeniyle ürinogenital sistem, hem iç hem de dış floranın neden olduğu bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmasızdır (Maripandi *et al*. 2010). İYE'ler, özellikle hamilelik sırasında kadınlar arasında en yaygın sorunlardan biridir. Kadınların yaklaşık % 10 – 20'sinin İYE'den muzdarip olduğu tahmin edilmektedir (Lee *et al*. 2015). Çoğu İYE vakasına, özellikle rektumu çevreleyen alanı kirleterek ve mesaneye yayılarak üretrayı enfekte eden gastrointestinal bakteriler neden olur (Anuli *et al*. 2016). Diğer çalışmalardan elde edilen raporlar, İYE'ye neden olan çoğu üropatojenin, kadınlarda genellikle vücudun bağışıklık tepkisine direnen bir biyofilm oluşturan periüretral bölgeyi kolonize ettiğini ortaya koymaktadır (Willey *et al.* 2011).

Uterus doğrudan mesanenin üstüne oturduğundan, uterusun artan ağırlığı, büyüdükçe idrarın mesaneden drenajını ve bu da enfeksiyonun idrarın mesaneden boşaltılmasını engelleyebilmesi sebebiyle ve hamilelik sırasında idrar yolundaki değişiklikler nedeniyle İYE'ler daha yaygındır (Foxman 2002). Diğer faktörler arasında üst ekstremiteler ve artan idrar üretral nüksü ve ayrıca filtrasyon hızını artıran ve böbrekler üzerinde baskı yaratan uterus kontrasepsiyonuna bağlı mesane boyutunun küçülmesi sayılabilir (Flores-Mireles *et al*. 2015). Gebelik faktörüne ek olarak, cinsel faktörler, idrar faktörleri, idrarın ozmolalitesi, introital faktörler, vajinal pH ve salgılayıcı durum gibi idrar yollarının enfeksiyon oranını artıran konakçıya ait başka faktörler de mevcuttur (Foxman 2002).

UPEC dahil olmak üzere Gram-negatif organizmalar arasında ilaç direncinin hızla yayılması nedeniyle İYE'lerin tedavisi giderek daha zor hale gelmektedir (Echols *et al.* 1999).

Bakteriüri, 65 – 70 yaşındaki kadınların yaklaşık % 10 – 15'inde ve 80 yaşın üzerindeki kadınların % 20 – 50'sinde görülür (Nygaard and Johnson 1996). Menopozdan sonra, genellikle vajinal atrofi ile ilişkili olan yumurtalık tarafından östrojen sekresyonunda

önemli bir azalma meydana gelmektedir. Östrojenler, vajinal epitelde Lactobacillus'un proliferasyonunu uyarıp vajinal pH'ın düşmesine neden olmakta, böylece Enterobacteriaceae tarafından vajinal kolonizasyonu önlemektedir. Ek olarak, östrojenlerin yokluğu vajinal kasların hacmini azaltır, bu da uterusu, pelvik tabanı ve mesaneyi tutan bağların gevşemesine ve iç genital organların sarkmasına neden olmaktadır. Menopozdan sonra azalan östrojenik hormon seviyeleri ile tekrarlayan İYE gelişimi arasında bir korelasyon olduğunu görülmüştür (Raz ve Stamm 1993). Topikal vajinal östrojenlerin uygulanması, bu çalışmada tekrarlayan İYE insidansını belirgin şekilde azaltmıştır. Hastanede yatan daha yaşlı kadınlarda, tekrarlayan İYE gelişimi için temel faktörler, fonksiyonel durumdaki bozulma ve üretral kateterizasyondur (Nicolle 1997).

Diyabet, asemptomatik bakteriüri ve tekrarlayan İYE gelişimi ile ilişkili başka bir durumdur (Geerlings *et al*. 2000). Diyabet ve üropatojenler arasında bir ilişki gözlenmemiştir. Bununla birlikte, asemptomatik bakteriürinin ilk ataklarına daha az sıklıkla *E. coli*'nin neden olduğu ve daha sıklıkla Klebsiella ve Enterococcus faecalis'in neden olduğu görülmektedir. Bu, asemptomatik bakteriüri ve semptomatik İYE'nin farklı hastalık süreçleri olabileceğini ve diyabetli hastalarda semptom yokluğunda bakteri kolonizasyonunun farklı olduğunu düşündürmektedir (Ronald 2003).

2.2.1 Kadınlarda idrar yolu enfeksiyonunun epidemiyolojisi

Tekrarlamalar yaygın olup insanların yaklaşık yarısı bir yıl içinde ikinci bir enfeksiyona yakalanmaktadır (Stapleton *et al*. 2012). Bakteriüri oranları, çocuk doğurma çağındaki kadınlarda yaşla birlikte yüzde ikiden yediye artar, yaşlı kadınlarda % 50'ye kadar yükselir (Dielubanza and Schaeffer 2011). En yaygın bulaşıcı hastalıklar arasında, idrar yolu enfeksiyonları (İYE) gelişmekte olan ülkelerde ilk sıralardadır (Naber *et al.* 2008). Bunlar diyabet, böbrek hastalığı, böbrek nakli ve idrar akışını engelleyen yapısal ve nörolojik anormalliklerin önemli komplikasyonları olup bu hastalarda bakteriyemi kaynağıdır (Anuli *et al*. 2016).

2.3 İdrar Yolu Enfeksiyonunun Üropatojenleri

Üropatojenler arasında *E.coli*, İYE'lerin baskın etiyolojik ajanıdır (Hannan *et al.* 2012). İYE'ye neden olan diğer gram negatif patojenler *Klebsiella spp.*, *Proteus mirabilis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dır. Ancak *Enterokoklar* ve koagülaz negatif Stafilokoklar, İYE'lerden en sık sorumlu olan gram pozitif bakterilerdir (Goering *et al.* 2008). Anaerobik bakteriler de İYE'de tanımlanmıştır, ancak rolleri iyi tanımlanmamıştır (Kauffman *et al*. 2000).

Üropatojenlerin dağılımı, enfeksiyon tipine veya hasta popülasyonuna göre farklılık gösterebilir. *E. coli* hem komplike hem de komplike olmayan İYE'lere neden olabilir. *P. mirabilis, Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterococcus spp.* ağırlıklı olarak komplike enfeksiyonlara neden olur ve hastanelerde ve uzun süreli bakım tesislerinde daha sık izole edilir (Grabe *et al.* 2015). Koagülaz pozitif stafilokoklar, hematojen yayılımdan böbreği istila edebilir ve böbrek apselerine neden olabilir (Sanchez *et al.* 2013).

2.3.1 İdrar yolu enfeksiyonlarının patojenleri

İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan bakteriler genellikle üretra yoluyla mesaneye girmektedirler. Bununla birlikte, enfeksiyon kan veya lenf yoluyla da ortaya çıkabilmektedir. Bakterilerin genellikle bağırsak hareketinden sonra üretraya bulaştığına inanılmaktadır. *E. coli* mesane duvarına yapışır ve vücudun bağışıklık tepkisine direnen bir biyofilm oluşturmaktadır (Salvatore *et al*. 2011). Motilite gibi diğer bakteriyel özellikler de İYE'lerin organizma patogenezinde önemlidir. Çünkü organizmanın üst üriner sisteme yükselmesini ve piyelonefrit ile sonuçlanabilecek idrar akışını engellemesini sağlamaktadır (Nicolle 2008). Bakterilerin virülans faktörleri idrar yolu enfeksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Bazı organizmalar, özellikle bağırsak florasında bulunan üropatojenik *E. coli* (UPEC) idrar yolunu enfekte edebilmektedir (Litza and Brill 2010). Bir yüzeye geri dönüşü olmayan bir şekilde bağlanan bakteriler, genellikle diğer bakterilerin sürekli replikasyonu ve toplanması için bir araç görevi görmektedir (Salvatore *et al*. 2011).

2.4 İdrarda En Çok Karşılaşılan Bakteri

Etiyolojik ajanların büyük bir çeşitliliği İYE'lere atfedilse de, bakteriler İYE'lerin % 95'inden fazlasından sorumlu olan başlıca nedensel organizmalardır (Bonadio *et al*. 2001). Hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler İYE ile ilişkilidir. *E. coli*, İYE'lerin en sık etken maddesidir. Rapor edilen diğer organizmalar arasında Enterobacteriaceae familyasının üyeleri. *Enterococcus* türleri, *Pseudomonas* türleri, *streptokoklar ve stafilokoklar* bulunur (Mahato *et al*. 2018)

2.4.1 *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae bakteri ailesinin bir üyesi olan *E. coli*, insanların ve sıcak kanlı hayvanların gastrointestinal yollarının en yaygın kommensal sakini ve aynı zamanda en önemli patojenlerden biridir (Kaper *et al*. 2004). 1885 yılında Alman – Avusturyalı çocuk doktoru Theodor Escherich, bu organizmayı sağlıklı bireylerin dışkısında keşfetmiştir. Kolonda bulunduğu için buna Bacterium coli commune adını vermiştir.

Kommensal olarak, *E. coli* zararsız bir şekilde bağırsak lümeninde kalmakta olup nadiren bir hastalığa neden olmaktadır. Bununla birlikte, zayıflamış veya bağışıklığı baskılanmış konakçıda veya gastrointestinal bariyerler ihlal edildiğinde, *E. coli*'nin patojenik olmayan – kommensal suşları bile enfeksiyona neden olabilmektedir. *E. coli'nin* bazı suşları, daha patojenik bir yapı alarak ortak kohortlarından ayrılabilmektedir. Bu suşlar, yeni nişlere uyum sağlamak için artan bir yeteneğe sahiptirler. Patojenik suşlarda spesifik virülans faktörlerinin tanımlanmasına yönelik olarak, *E. coli* temel olarak O (lipopolisakkarit, LPS) ve H (flagellar) antijenlerinin serolojik tanımlaması temelinde sınıflandırılmıştır (Kaper *et al*. 2004).

UPEC, fenotipik yollardaki ve virülans faktörlerindeki kommensal *E. coli* suşlarından farklı olarak, insanlarda idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) en yaygın mikroorganizması olup vakaların yaklaşık % 80'inden sorumludur (Johnson and Stell 2000).

2.4.1.1 E. coli'nin genel özellikleri

E. coli gram negatif, fakültatif bir anaerob ve spor oluşturmayan bir bakteri olup hücreler tipik olarak çubuk şeklindedir. Yaklaşık 2,0 μm uzunluğunda ve 0,25–1,0 μm çapındadır. Hücre hacmi 0,6–0,7 μm^3'tür (Yu *et al*. 2014). Hareketli veya hareketsiz olabilirler. Hareketli olduklarında polar yerine yanal kamçı üretmektedirler. Flagella'ya ek olarak, birçok suş, bakteri yüzeyinden dışarı doğru uzanan ve diğer hücreler veya doku yüzeylerine tutunmada rol oynayan fimbria veya pili gibi uzantılar üretmektedir. *Escherichia coli*'nin hücre duvarlarında suşa özgü O lipopolisakkarit antijenleri mevcut olarak tanınmıştır. Ayrıca çok sayıda farklı kapsüler polisakkarit (K) antijeni de vardır. *Escherichia coli*, O, H ve K antijenlerinin kombinasyonuna dayalı olarak serotiplendirilir. Ancak genellikle sadece O ve H tipleri listelenir (Desmarchelier and Fegan 2016).

2.4.1.2 Kültürel ve büyüme özellikleri

Tipik laboratuvar suşları, patojenik olmayan mikroorganizmalar olarak kabul edilir ve özellikle oksijen varlığında çok çeşitli sıvı veya katı ortamlarda hızla çoğalır. Ancak anaerobik koşullar (fakültatif anaerob) altında da büyüyebilir. Yaygın laboratuvar *E. coli* suşlarının fenotipleri ve genotipleri iyi karakterize edilmiş olup, bu organizmanın 1940'ların başından beri on yıllar boyunca bir model öğretim ve araştırma organizması olarak kullanılmasına yol açmıştır (Tuttle *et al*. 2021).

E. coli, 44°C'de laktozu fermente etme yeteneği ve belirli kültür ortamlarında büyümesi ve renk reaksiyonu ile diğer koliformların çoğundan ayırt edilebilir. Laktoz fermenteri olup Macconkey agarda pembe koloniler üretir. Bir EMB plakasında kültürlendiğinde, *E.coli* için pozitif bir sonuç, koyu mor kolonilere sahip metalik yeşil bir ortamdır. Bazı suşlar Blood Agar besiyerinde β-hemoliz gösterir (Kavitha and Devasena 2013).

Geleneksel klinik laboratuvar biyokimyasal testleri ile *E. coli*, indol üretimi ve metil kırmızısı testi için pozitiftir. Çoğu suş oksidaz, sitrat, üreaz, hidrojen sülfür negatif ve

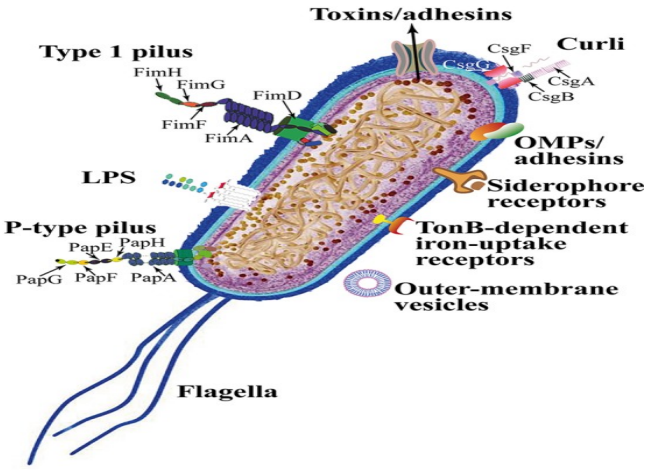
fermente laktozdur (Fotadar *et al*. 2005). Laktoz dışında, çoğu *E. coli* suşu D-mannitol, D-sorbitol ve Larabinoz, maltoz, D-ksiloz, trehaloz ve Dmannoz'u da fermente edebilir (Roesch *et al*. 2003).

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *E. coli*, fakültatif bir anaerob olmasına ve bu nedenle anaerobik koşullar altında gelişebilmesine rağmen, aerobik koşullar altında 37°C'de optimal olarak büyür. Ayrıca, bazı *E. coli* suşlarının 53°C'ye kadar sıcaklıklarda büyüdüğü daha önce de rapor edilmişti. *E.coli* nispeten dayanıklı bir bakteri olup düşük sıcaklıklarda (≤ 4°C) artan depolama süreleri, canlılığın azalmasına neden olsa da, katı ortam üzerinde uzun süreler (3 aya kadar) boyunca 4°C'lik sıcaklıklarda yaşayabilir. *E. coli* ayrıca geniş bir pH aralığında büyüyebilir (Fotadar *et al*. 2005).

2.4.1.3 Üropatojenik Escherichia coli ve virülansı

UPEC, toplum kaynaklı İYE'lerin ana nedenidir (yaklaşık % 80 – 90) (Foxman 2014, Flores-Mireles *et al.* 2015). Dört ana UPEC filogrubu (A, B1, B2 ve D) genomik Patojenite Adalarının (PAI) oluşumu ve adezinler, toksinler, yüzey polisakkaritleri, flagella ve demir edinim sistemleri gibi virülans faktörlerinin ifadesi temelinde tanımlanmıştır (Bien *et al.* 2012). Genellikle, bu virülans faktörlerinin çoğu, UPEC'nin İYE'ye neden olması için gereklidir (Hannan *et al*. 2012).

UPEC, İYE patogenezinde kritik rol oynayan çeşitli virülans faktörleri kullanarak mesaneyi kolonize etmektedir. Bunlar, lipopolisakkarit (LPS), polisakkarit kapsül, flagella, dış zar kesecikleri, pili, kıvrım, pilus olmayan yapışkanlar, dış zar proteinleri (OMP'ler) gibi yüzey yapısal bileşenlerinin yanı sıra salgılanan toksinleri, salgı sistemlerini ve Siderofor reseptörleri dahil olmak üzere TonB'ye bağlı demir alım reseptörlerini içermektedir. Bu bileşenlerin tümü, yeni ilaç ve aşıların geliştirilmesi için dikkat çekici detaylardır (Klemm *et al*. 2010, Werneburg *et al*. 2015, O'Brien *et al*. 2016).



Şekil 2.1 *Escherichia coli* yapıştırıcıları ve hareketli yapı (Maria *et al.* 2017).

LPS, bir oligosakkarit çekirdeğe dizilmiş yağ asitlerinden oluşan ve daha sonra yaygın olarak O antijeni olarak adlandırılan uzun bir polisakkarit zincirine bağlanan amfipatik özelliklere sahip moleküllerdir (Simpson *et al*. 2015). LPS yapısal bileşenleri, mesaneleri akut olarak kolonize etme, rezervuar oluşturma ile doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık tepkilerini uyandırma yeteneği de dahil olmak üzere UPEC yaşam döngüsünün birçok yönüne aracılık etmektedir (Aguiniga *et al*. 2016). LPS, hidrofobik antibiyotiklere karşı direnç sağlamakta olup hücre yüzeyindeki LPS miktarı azaldığında hidrofobik toksik moleküllere karşı aşırı duyarlılık oluşur (Zhang *et al*. 2013). UPEC'de, fim operon tip 1 pili'yi kodlarken (mannoza duyarlı olan bir hemaglütinasyonu ifade eder), pap operon ise P- veya Pap-pili'yi (P-kan grubu antijenindeki digalaktosit ünitesi ile etkileşime girebilen) kodlamaktadır. UPEC klinik izolatlarında, fim operon kurucu iken pap, diğer olası virülans belirleyicilerinden de sorumlu olan bir PAI'nin parçasıdır. Genel olarak, her iki pili türü de pilus sapını sağlayan bir ana pilus proteini alt biriminden ve uzak uçta birkaç küçük alt birim proteininden oluşan heteropolimerik olup PapG ve FimH gerçek adezinleri temsil etmektedir. PapG ve FimH iki alandan oluşmaktadır, ilki kopolimerizasyona izin verirken bir pilin alanı tarafından gerçekleştirilmekte olup ikincisi karbonhidratları bağlayabilen bir lektin alanıdır (Kline *et al.* 2009).

Mesane epitelinde bulunan manosile edilmiş proteinler, bir Rho GTPaz (Rac1) aracılı konakçı aktin hücre iskeleti yeniden düzenlemesine bağlı bir şekilde FimH'ye

bağlanmaktadır (Eto *et al*. 2007). Bu sonuçta bakteri istilasına bağlı olarak sistit gelişimine yol açmaktadır (Hahn *et al*. 2002). Ek olarak, tip 1 pili ekspresyonu, tip 1 pili aktif ekspresyonu (Faz-AÇIK, pilili hücreler) ve ekspresyon kaybını (Faz KAPALI, pilili olmayan hücreler (Schwan 2011) içermektedir. Açık-kapalı Fazlar arasında tersine çevrilebilir geçişte yer alan moleküler yollar, asidik pH ve tuz büyüme koşulları gibi idrar yolu içindeki çevresel sinyaller tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir.

Pili, UPEC'nin üriner sistem mukozasına ilk bağlanmasında rol oynarken, UPEC çok sayıda başka afimbrial adezyon hazırlamaktadır. Aslında, TosA adezyonu idrar yolu izolatlarının yaklaşık % 30'unda mevcut olup İYE sırasında ifade edilmektedir (Vigil *et al*. 2011). Başka bir yapıştırıcı olan FdeC, bir fare enfeksiyon modelinde mesane ve böbreklerin kolonizasyonunda rol oynarken (Nesta *et al*. 2012), demirle düzenlenen yapışma Iha ise BEC'lere yapışmaya aracılık etmektedir (Johnson *et al*. 2005).

Akut, asemptomatik veya tekrarlayan İYE'leri olan kadınlardan izole edilen UPEC, flagellum aracılı hareketliliğin varlığını göstermektedir (Wright *et al*. 2005). Flagella (Şekil 2. 1), bazı EPEC suşlarına yapışkan ve istilacı özellikler kazandıran (Girón *et al*. 2002) ve biyofilmlerin dinamiğinde önemli bir rol oynayan organellerdir (Pratt and Kolter 1998). Yakın zamanda, biyofilm oluşumu sırasında, büyüme fazı sırasında gen ekspresyonu ve regülasyonu ile gösterildiği gibi, kamçının yapışma, olgunlaşma ve dağılma gibi farklı roller oynadığı bildirilmiştir (Nakamura *et al*. 2016).

α-hemolizin aslında böbrek hasarı ve yara izi ile ilişkili olup renal tübüler epitel hücrelerinde Ca2+ salınımlarını indüklemektedir. Böylece normal idrar akışını bozarak üreterlerin ve böbrek parankiminin yükselmesini ve kolonizasyonunu potansiyel olarak arttırmaktadır. α-hemolisinin, mesane epitel hücrelerinde proinflamatuar Kaspaz-1 / Kaspaz-4'e bağlı hücre ölümünü indüklediği ve bunun da hücre pul pul dökülmesine neden olduğu bulunmuştur (Nagamatsu *et al*. 2015).

2.4.2 *Klebsiella pnemoniae*

Klebsiella pneumoniae Enterobacteriaceae familyasına ait gram negatif, kapsüllü, hareketsiz laktoz fermente eden, fakültatif anaerobik bir bakteridir (Podschun and Ullmann 1998, Winn 2006). Hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların en sık etkenlerinden biridir. Genellikle pnömoni, septisemi, idrar yolu enfeksiyonu ile ilişkilidir ancak çeşitli diğer piyojenik enfeksiyonlara da neden olabilir (Arti *et al*. 2013). *K. pneumoniae* aynı zamanda *Escherichia coli*'den sonra İYE'den en sık izole edilen ikinci türdür (Stamm *et al*. 1991). Bakterilerin konak yapılara tutunma yeteneği, enfeksiyonların gelişmesi için gerekli kabul edilir; bununla birlikte, az sayıda çalışma, yapışma faktörlerinin *K. pneumoniae* virülansı üzerindeki etkisini incelemiştir (Struve *et al*. 2008, Lin *et al*. 2010).

2.4.2.1 Klebsiella pneumonia'nın genel özellikleri

Gram-negatif *Klebsiella pneumonia*, fakültatif olarak anaerob olan Klebsiella cinsi ve *Enterobacteriaceae* familyasından çubuk şeklinde bir basildir. *K. pneumoniae*, oksidaz negatif, şekerleri, glikozu, laktozu, mannitolü, maltozu fermente etmekte olup laktozdan asit ve gaz üretmektedir (Regué *et al.* 2004). Sağlıklı insanların % 5'inin bağırsak sisteminde bulunan enterik bir bakteridir (Lin *et al*. 2010). 35 yıl önce Tayvan'da *K. pneumoniae*'nin (hvKP) yeni bir hipervirülent varyantı tanımlanmış olup o zamandan beri Asya'da sıklıkla rapor edilmiştir. Yetiştirilen agar plak kolonilerindeki bu yeni varyant, görünüm olarak klasik suşun hipermukozasıdır. Bu nedenle hipermuköz K. pnömonisi olarak da adlandırılmaktadır (Lin *et al*. 2010, Mandell *et al*. 2007, Ito *et al.* 2015).

2.4.2.2 Klebsiella pneumonia'nın virülans faktörleri

K. pneumoniae, patojen ile ortak olan ve kapsül antijenleri, adezyon faktörleri, lipopolisakkarit gibi enterotoksin üretimi, serum ve sistem için direnç öldürücü etki, ve antibiyotiklere karşı çoklu direnç gibi birçok virülans faktörüne sahiptir. Kapsül,

bakteriyi fagositozdan koruduğu ve bakterisidal serum faktörleriyle bakterileri önlediği için Klebsiella'nın virülansı için temel olarak kabul edilmektedir (Podschun and Ullmann, 1998). *K. pneumoniae*'nin bazı serotipleri veya kapsüler türleri, örn. (K1, K2, K5, K54 ve K57), invaziv insan enfeksiyon hastalığı ile ilişkilidir. K1 Friedländers pnömonisine neden olan izolatlar arasında bulunmuş olup daha yakın zamanda piyojenik karaciğer apseleri ile ilişkilendirilmiştir (Gündestrup 2014, Brisse *et al*. 2009) K-tipi, dizi tipi (ST) ve virülans gen içeriği arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Yazarlar, K-tiplerinin spesifik *K. pneumoniae* klonları ile ilişkili olmadığı ve K-tiplerinin, kapsüler polisakkaritlerin sentezini kodlayan cps operonunun yatay iletimi ile ilişkisiz klonlar arasında yayınlandığı sonucuna varmıştır. Son yıllarda, *K. pneumoniae* virülans faktörlerini kodlayan birkaç gen tanımlanmıştır: plazmit kaynaklı rmpA, mukoid fenotipi düzenlemektedir (Yu *et al*. 2007), wcaG, fagositozdan güçlendirilmiş bakteriyel kaçış ile ilişkiliyken (Wu *et al*. 2008), kfu demir ediniminde rol oynar, fimH tip 1 fimbriaları kodlar, mrkD tip 3 fimbriaları kodlamakta olup cf29A fimbriyal olmayan yapışma faktörü CF29K'yı kodlamaktadır (Brisse *et al*. 2009).

Lipopolisakkarit, fagositoza direnmesine yardımcı olan bakterilerin yüzeysel bileşimlerinden biri olduğundan ve kompleman faktörünü aktive etme yeteneği ile karakterize edildiğinden, özellikle *K. pneumoniae* olmak üzere bakteriyel patojenitede önemli ve temel bir faktörü temsil etmektedir (Podschun and Ullmann 1998). Bakteriler konağın Tamamlayıcı Sistemine karşı korumaya katılmaktadır. LPS üç kısımdan oluşur: Polisakkaritin bir yan zincirinden oluşan Lipid A, Core polisakkaritten, O antijeninden ve O antijeni bakterinin öldürmeye karşı direncinden sorumludur (Evrard *et al*. 2010). *K. pneumonia*'nın sekiz serotipi mevcut olup serotip O1 ve O2 en yaygın olanlarıdır.

Dış zar proteinleri, çoğu Enterobacteracea ile karakterize edilen dış zar OmpA'da bulunan gram negatif bakterilerin önemli proteinlerinden biridir.

Sideroforlar ve Fimbrial adhezyon genleri, insan yanak boşluğu epitel hücrelerine yapışma ve biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olan fimA, fimH, mrkA ve mrkD biyolojik zarlarını oluşturmaktan sorumludur (Siham *et al.* 2012, Ali and Noor 2017).

Hipermukoza fenotipi hvKP suşlarının ayırt edici bir faktörü, hipermukoza fenotipidir. Toplum kökenli piyojenik karaciğer apselerine (CA-PLA) neden olan suşların tümü olmasa da büyük çoğunluğu bu fenotipe sahiptir (Yu *et al*. 2007).

2.4.3 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa, hastane kaynaklı kateterle ilişkili İYE'lerle ilişkili en yaygın üçüncü patojendir (Jarvis and Martone 1992). *P. aeruginosa*, bir polar flagellum içeren Gram negatif hareketli çubuklardır (Jarvis and Martone 1992). Bu bakteri, bağışıklığı baskılanmış veya normal vücut savunmasını ihlal eden kişileri enfekte eden fırsatçı bir patojendir. *P. aeruginosa* idrar yolu, solunum yolu, kemik, eklem, yumuşak doku (yanık) ve dermatit gibi insanın tüm doku ve sistemlerini enfekte edebilen çok yönlü bir patojendir (Gellatly and Hancock 2013). Bakteriler ayrıca kistik fibroz (CF), kanser ve edinilmiş immün yetmezlik hastaları (AIDS) gibi durumlardan muzdarip duyarlı hastaları da enfekte etmektedir (Bodey 2001, Vidal *et al*. 1999). *P. aeruginosa* toprakta ve suda her yerde bulunmakta olup yüzeyler ile substratlar üzerindeki biyofilmlerde veya yüzen bir planktonik hücre olarak bulunabilmektedir (Gellatly and Hancock 2013). 37°C'de bakteri optimal olmasına rağmen 42°C'ye kadar olan çeşitli sıcaklıklarda da büyüyebilmektedir. Bakteri birçok antibiyotiğe dirençlidir. Zayıf antiseptiklere ve yüksek konsantrasyonlarda tuzlara ve boyalara direnebilmektedir. *P. aeruginosa*'nın damıtılmış suda büyüdüğü ve minimum büyüme gereksinimleriyle büyüyebildiğini gösterdiği bulunmuştur (Wu *et al*. 2015).

P. aeruginosa, simetrik bir fosfolipid çift tabakasına sahip bir sitoplazmik zara ve bir fosfolipid iç yüzü olan bir asimetrik dış zar ile bir geçirgenlik bariyeri oluşturan bir lipopolisakkarit dış tabakasına sahip bir sitoplazmik zara sahiptir. *P. aeruginosa'nın* dış zarı, lipoproteinler ve kanallar dahil olmak üzere çok sayıda protein içermektedir (Remans *et al*. 2010).

2.4.3.1 Pseudomonas aeruginosa'nın kültürel özellikleri

Pseudomonas çubuk şeklinde, narin (0,5 ila 0,8 µm x 1,5 ila 3,0 µm) gram negatiftir. Pseudomonas'ın bazı suşları, özellikle kistik fibroz vakalarından izole edilenler, çok mukoid olup polisakkaritlerden yapılmış bir tür psödokapsüle (glikokaliks) sahiptir. Glikokaliks, pseudomonaları konak savunmasından korumaktadır. Pseudomonas katı (zorunlu) bir aerobdur, ancak ortamda varsa bazen anaerobik olarak büyüyebilmektedir. Pseudomonas geniş sıcaklık aralıklarında büyüyebilir; optimum sıcaklık 37°C'dir. Nutrient agar gibi sıradan besiyerlerinde üreyebilir ve bakteriyoloji laboratuvarında rutin olarak kullanılan hemen hemen tüm kültür besiyerlerinde üremektedir. Pseudomonas'ın damıtılmış suda da büyüdüğü görülmüştür (Meyer *et al*. 2002).

5 – 42°C büyüme sıcaklık aralığına sahip katı bir aerobdur. Kolonize enfekte irin veya bir organizma kültürünün karakteristik mavi – yeşil görünümü, piyosiyanin (mavi) ve piyoverdin (floresein, sarı) karışımından kaynaklanmaktadır. Mavi – yeşil pigment üretimi, *P. aeruginosa'nın* göstergesidir. Bazı türler, pyorubin (kırmızı) veya pyomelanin (kahverengi) gibi başka pigmentler üretmektedir. *P. aeruginosa*, 37°C'de 24 saat nütrient agar üzerinde aerobik inkübasyondan sonra en az altı kolonyal tip üretebilmektedir. En yaygın tip 1, büyük, alçak, oval, dışbükey ve pürüzlü, bazen tırtıklı büyüme ile çevrili kolonilerdir. Bir türden diğerine kolonyal varyasyon, mutlaka birden fazla suşun varlığını göstermez. Birçok suş, kolonyal lizis ile metalik yanardönerlik sergilemektedir. Bu, bakteriyofaj tarafından parçalanmaya benzer. Ancak faj aktivitesi ile ilişkili değildir. Pseudomonas seçici veya kanlı agar üzerinde izole edilen koloniler, pozitif bir oksidaz reaksiyonu ve "*P. aeruginosa*" olarak karakteristik pigment üretimi ile varsayımsal olarak tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, bazı *P. aeruginosa* suşları, özellikle mukoid olanlar, piyosiyanin üretmeyebilir ve ayrıca yavaş bir oksidaz reaksiyonu gösterebilir ve bu nedenle tanımlamayı doğrulamak için daha fazla test gerektirebilir (İngiltere Kamu Sağlığı 2015).

2.4.3.2 P. aeruginosa İYE'lerin virülans faktörleri

P. aeruginosa bakterisinin virülans faktörleri, tutunma, konakçı hücrelerin istilası ve kolonizasyonunda önemli bir patolojik adım olduğundan, konakçıya bakteriyel adheransta önemli roller oynadıkları flagella ve pilli'yi içerir (Belas 2014, Flores *et al*. 2015). Ek olarak, flagellar motilitedeki değişiklikler, yaşam tarzının planktonik hücrelerden, sonunda biyofilm oluşumuna yol açabilecek sapsız formlara geçişi için gereklidir (Mann ve Wozniak 2012).

Ayrıca, Gram negatif bakterilerin hücre duvarı, ana hücre duvarı bileşeni olan lipopolisakkarit (LPS) olarak bilinen bir endotoksin içerir (Raetz and Whitfield 2002). LPS, iç zar (IN) Peptidoglikan ile birlikte hücre duvarının bir parçası olan hücre duvarının dış zarında bulunur (Sampath 2018). Ayrıca P. aeruginosa, mukoza zarlarında koruma sağlayan bir glikoprotein olan müsine yapışabilme özelliğine sahiptir. Birincil savunma bariyeri görevi görür ve idrarda üropatojenlerin ve zararlı elementlerin yapışmasına direnir (Minardi *et al*. 2011).

2.4.4 İdrar yolu enfeksiyonlarındaki *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis, İYE'lere neden olabilen en yaygın gram negatif bakterilerden biridir. Bakteriüri, böbrek taşları, kateter tıkanıklığı, akut piyelonefrit ve ateş *P. mirabilis* tarafından geliştirilebilir. Aslında komplike idrar yolu enfeksiyonlarının çoğundan *P. mirabilis* suşları sorumludur (Schaffer and Melanie 2015). *P. mirabilis*, İYE tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli hale gelmektedir (Jamil *et al*. 2017).

P. mirabilis, klinik örneklerde tanımlanan açık ara en yaygın türdür. *P. mirabilis* hem toplum kökenli hem de kateterle ilişkili İYE, sistit, piyelonefrit, prostatit, yara ve yanık enfeksiyonlarının yaygın bir nedeni olup bazen solunum yolu enfeksiyonlarına, kronik süpüratif otitis mediaya, göz enfeksiyonlarına (endoftalmi), menenjit ve menenjoensefalite neden olmaktadır (Stock 2003). Kateter ilişkili İYE sonrası

bakterelerinin yaygın bir nedeni (Melzer and Welch 2013) olup nadir durumlarda selülit, endokardit, mastoidit, ampiyem ve osteomiyelite neden olduğu bildirilmiştir (Stock 2003). *P. mirabilis*'in romatoid artrit etiyolojisinde rol oynayabileceği de öne sürülmüştür (Wilson *et al*. 1997).

P. mirabilis, kommensal, patojen veya geçici bir organizma olup olmadığı biraz tartışmalı olsa da, sıklıkla gastrointestinal sistemden izole edilmektedir (Janda and Abbott 2006). *P. mirabilis* idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) çoğunluğunun bakterilerin gastrointestinal sistemden yükselmesinden kaynaklandığı, diğerlerinin ise özellikle sağlık hizmetlerinde kişiden kişiye bulaşmadan kaynaklandığı düşünülmektedir (O'Hara *et al*. 2000). Bu, *P. mirabilis* İYE'li bazı hastaların dışkılarında aynı *P. mirabilis* suşuna sahipken diğerlerinin dışkılarında *P. mirabilis* bulunmadığına dair kanıtlarla desteklenmektedir (Mathur *et al*. 2005). Bazı çalışmalar *P. mirabilis'i* romatoid artrit ile ilişkilendirmiş olmasına rağmen diğerleri bir ilişki bulamamıştır (Gaston 1995, Rashid and Ebringer 2007).

2.4.4.1 P. mirabilis'in kültürel özellikleri

Proteus cinsinin üyeleri gram negatif, hareketli fakültatif anaerobik çubuklardır. Kültür plakalarında *Proteus mirabilis*, sürü oluşturma yetenekleriyle ayırt edilmektedir. *Proteus spp.* MacConkey agar üzerinde 2 – 3 mm renksiz, yassı koloniler bulunurken, kanlı agar plakalarını ve LB agar plakalarını kaplayacak şekilde dalgalar halinde kümelenmektedirler. *Proteus mirabilis*, aşağıdaki biyokimyasal özelliklerle tanımlanmaktadır. Pozitif metil-kırmızı reaksiyon, negatif Voges-Proskauer reaksiyonu, fenilalanin deaminaz üretimi, KCN'de büyüme ve üreaz üretimi. *P. mirabilis* ve *P. penneri* indol negatifken, diğer *Proteus* türleri indol pozitiftir. *Proteus* genom türleri, beş biyokimyasal özelliğe dayalı olarak diğer *Proteus* türlerinden ayırt edilebilir.

2.4.4.2 P.mirabilis'in virülans faktörleri

Hem LPS'lerin hem de CPS'lerin, hem böbrek hem de mesane taşı oluşumunu etkilemenin yanı sıra, İYE'lerin ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Torzewska *et al*. 2003, Al-Marzoqi *et al.* 2008). Ayrıca, LPS O antijeni, serum aracılı bakterisidal aktiviteye karşı koruma sağlamakta olup bakterilerden salınan bakteriyel LPS, septik şok dahil olmak üzere geniş bir patofizyolojik koşullar yelpazesine neden olan biyolojik olarak aktif bir endotoksindir (Raetz and Whitfield 2002; Różalski 2015, Kaca et al. 2009). Son zamanlarda, sitotoksik ve aglütinasyon özelliklerine sahip iki ek virülans faktörü, yüksek afiniteli fosfat taşıyıcı (Pst) ve ototransporter (Pta) tanımlanmıştır (Alamuri and Mobley 2008, Jacobsen *et al.* 2008).

*Proteus mirabilis'*in bakteriyel yapışması, fimbrialar tarafından yapılan enfeksiyonların kolonizasyonu ve geliştirilmesinde önemli bir adımdır (Hasan 2020).

Hareketlilik, *Proteus mirabilis'te* enfeksiyonun idrar yolu kısımlarına invazyonu ve yayılmasında etkili olan en önemli virülans faktörüdür (Kuan *et al*. 2014). Enfeksiyon periüretral bölgenin invazyonu ile başlar, daha sonra üretradan geçerek mesaneye ve böbrekler (Sarshar *et al*. 2020) gibi idrar yolunun diğer bölgelerine ilerlemektedir (Hickling *et al*. 2017). Bu mikroorganizmanın hareketliliği kaynarken bu mikroorganizma kaynadığında virülans ifadesi artmaktadır (Kotian *et al*. 2020).

2.4.5 İYE'deki *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, idrar yolunu işgal edebilen enfeksiyona karışan ajanlardan biridir. *S. aureus* İYE'nin % 0,5 – 6'sını oluştursa da, tedavi edilmezse enfeksiyon yaşamı tehdit eden duruma yol açabilir (Tayebi *et al*. 2014, Vasudevan 2015). *S. aureus*'un çeşitli yüzeylerde biyofilmler oluşturduğu bilinmektedir. Bu patojen, üroepitelyuma tutunarak ve biyofilm oluşturarak İYE'ye neden olan böbrek dokusunu istila edebilir. *S. aureus'ta* biyofilm oluşturma yeteneği, yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere direnci artırabildiğinden, bu organizma ile enfekte olan hastanede yatan

hastalar, tedavi başarısızlığı açısından önemli risk altındadır (Ando *et al*. 2004, Soto 2014).

2.4.5.1 Mikroskobik morfoloji

S. aureus hücreleri Gram pozitiftir ve küre şeklinde görünürler. Gram boyamadan sonra ışık mikroskobunda incelendiğinde genellikle üzüm salkımına benzeyen kümeler halinde bulunurlar. "Staphylococcus" adı, üzüm salkımı (staphyle) ve dut (kokkos) anlamına gelen Yunancadan türetilmiştir (Licitra 2013). Hücrelerin çapı 0,5 ila 1,0 μm arasında değişmektedir (Foster 1996). Hücrelerin transmisyon elektron mikroskobu kalın hücre duvarını, belirgin sitoplazmik membranı ve amorf sitoplazmayı gösterir (Touhami *et al.* 2004).

2.4.5.2 Genel kültürel ve biyokimyasal özellikler

S. aureus, besin açısından zengin agar besiyerinde oldukça büyük sarı veya beyaz koloniler oluşturan aerobik ve fakültatif anaerobik bir organizmadır. Kolonilerin sarı rengi, organizma tarafından üretilen karotenoidler tarafından verilmektedir. "Aureus" terimi, altının rengini ifade eden Latince'den türetilmiştir (Liu *et al.* 2005). Organizma, dört tip hemolizin (alfa, beta, gama ve delta) üretilmesinden dolayı kanlı agarda genellikle hemolitiktir (Dinges *et al*. 2000). Neredeyse tüm *S. aureus* izolatları, organizmanın tanımlanmasına da yardımcı olan bir virülans faktörü olan koagülaz enzimi üretmektedir. Organizma tuza toleranslı olup % 7,5 sodyum klorür içeren mannitol-tuz agar ortamında büyüyebilir (Brown *et al*. 2005). Organizma katalaz pozitif ve oksidaz negatiftir.

*2.4.5.3 S. aureus'*un virülans faktörleri

Virülans faktörleri, konakçı hücrelere bağlanmaya, konakçı bağışıklık kalkanını parçalamaya, doku istilasına, sepsise neden olmaya ve toksin aracılı sendromlara yol

açmaya yardımcı olmaktadır. Bu, güçlü konakçı immün yanıtı olmayan kalıcı stafilokok enfeksiyonlarının temelidir (Kim *et al*. 2016).

2.4.6 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecali, enterokok enfeksiyonlarının % 85 ila % 90'ına neden olan en yaygın olarak tanınan enterokok türlerinden biridir. Gram pozitif bakteriler, teikoik asit olan spesifik antijen nedeniyle daha önce D grubu Streptokok olarak sınıflandırılmaktaydı. Bu mikropların büyük çoğunluğu hemolitik olmayıp bazen doğal bağırsak florasında bulunabilen alfa hemolitiktir (Mohammadi *et al.* 2015). *E. faecalis* tek, çift veya kısa zincirli, spor oluşturmayan, katalaz ve oksidaz enzimleri üretmeyen, hareketsiz, fakültatif anaerobik bakteriler olarak karşımıza çıkmaktadır (Van Tyne and Gilmore 2014). Enterokoklar, ideal sıcaklık 30^0C ile 35^0C arasında olan ve 10^0C ile 45^0C arasında gelişebilen mezofilik bakterilerdir (García-Solache and Rice 2019). *E. faecalis* tuzda % 6,5 (sodyum klorür), safra tuzlarında % 40 ve pH = 9,6'da gelişmektedir (Higuita ve Huycke 2014). 60°C sıcaklıkta 30 dakika yaşayabilir ve bu da onları diğer *Enterococcus* türlerinden ayırmaktadır (Alipour *et al*. 2014). Ayrıca fırsatçı patojen olduğu bilinen ve hastane enfeksiyonlarının yaygın bir nedeni olan ve insanlarda bazı hastalıklara neden olan *E. faecalisis* bakteriyemi, endokardit, idrar yolu hastalıkları veya farklı enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir. Son zamanlarda, pankreas ve kolorektal kanserlerde *E. faecalis*'in rolü de belirtilmiş olmasına rağmen bu hala tartışmalıdır (O'Driscoll and Crank 2015, de Almeida *et al*. 2018).

E. faecalisis, bakterisidal etkilerden önce sadece bakteriyostatik olan penisilin, ampisilin, piperasilin ve vankomisin gibi birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir (Kristich *et al*. 2014). Çok çeşitli *E. faecalis* hastalıkları ile ilişkili birçok virülans faktörü tanımlanmıştır.

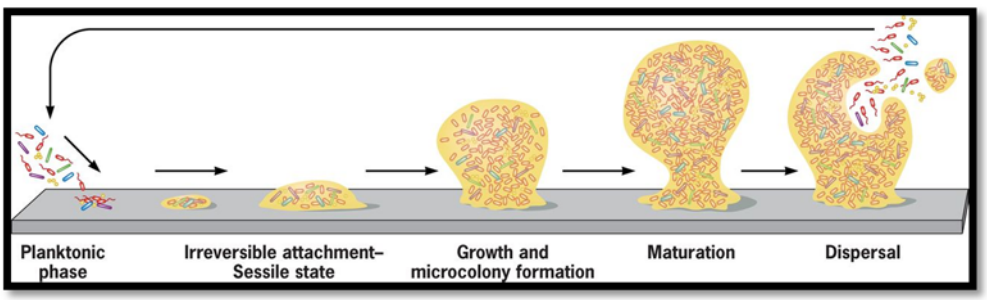
2.5 Biyofilm

2.5.1 Bakteriyel biyofilmin ortaya çıkışı

1978'de Anthony van Leeuwenhoek, yüzeylere bakteri yapışmasını gözlemleyen ilk kişidir. Biyofilm teriminden ilk kez (Costerton *et al.* 1999) tarafından bir raporda tanımlandığı 1978 yılına kadar bahsedilmemiştir. Daha sonra, 1993 yılında, Amerikan Mikrobiyoloji Derneği tarafından biyofilmlerin önemi kabul edilmiştir. 1999'(da Costerton et al. 1999) biyofilmleri "bir yüzeye yapışmış, kendi ürettiği polimerik bir matris içine alınmış, yapılandırılmış bir bakteri hücreleri topluluğu" olarak adlandırmıştır (Bjarnsholt 2013, Khatoon *et al*. 2018).

Üç boyutlu yapılarda biyofilmlerin oluşumu, oldukça düzenli ve dinamik bir süreçte çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Ana faktör, tipik olarak protein filamentleri, polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitler içeren ve söz konusu bakteri türüne ve çevresel koşullara göre farklılık gösterebilen hücre dışı matrisin üretimidir (Hufnagel *et al*. 2015). Bu nedenle, bir biyofilm içinde bakteriyel yaşam tarzının planktonik durumdan sabit duruma geçişi, biyofilm matrisinin üretimi için gerekli olan genlerin düzenlenmesine büyük ölçüde bağlıdır. Bir diğer önemli adım, hareketliliğin yüzeylere tutunma ve biyofilm oluşturmadaki önemi nedeniyle hareketlilik genlerinin düzenlenmesidir (Hung *et al*. 2013, Besharova *et al.* 2016).

Biyofilm oluşumu, Şekil 2.2'de gösterilen beş adımda gerçekleştirilmektedir.



Şekil 2.2 Biyofilm oluşum aşamaları (Maria *et al.* 2013)

Biyofilmler, çoğunlukla *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae, E. coli, Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* olmak üzere hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler tarafından oluşturulmaktadır (Khatoon *et al*. 2018). Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH), tüm mikrobiyal enfeksiyonların % 65'inin ve kronik enfeksiyonların % 80'inin biyofilm oluşumuyla ilişkili olduğunu bildirmiştir, çünkü biyofilmler doğada enfeksiyonlara ve aslında hastane enfeksiyonlarına neden olabilmektedir (Jamal *et al*. 2018).

Dahası, biyofilmler antibiyotiklere karşı yüksek direnç gösterir ve bu da klinik ortamda yok edilmelerini zorlaştırmaktadır (Paharik and Horswill 2016). Biyofilmler antibiyotiklere bir dizi önerilen mekanizma yoluyla direnç gösterirler, bunlardan biri antibiyotiklerin nüfuz etmemesi veya gecikmesi nedeniyle indüklenir ve biyofilmdeki bakterilerin büyümesi etkilenir (Hall and Mah 2017).

2.5.2 Biyofilmlerin oluşumu ve İYE'ler

Belirtildiği gibi, bakteriyel biyofilmler tıpta hayati bir role sahiptir. NIH, biyofilm oluşturan bakterilerin ürolojide ki enfeksiyonların % 80 rolü olduğunu belirtilmektedir (Stowe *et al*. 2011). Biyofilmler ürotelyumda ve implante edilen yabancı cisimlerde bulunmaktadır (Tenke *et al*. 2006). Bakteriler, üroepitelyuma yapışarak ve böbrek dokularını istila edebilen bir biyofilm oluşturarak piyelonefrite neden olabilir (Nickel *et al*. 1985). Biyofilmler ayrıca tıkanmaya neden olabilecek kateterlerde de oluşabilir (Tambyah 2004). CAUTI vakalarının çoğunda kommensal perineal flora rol oynamaktadır. Bu enfeksiyonların % 90'dan fazlası monomikrobiyaldir ve en sık izole edilen patojenler *E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterococci, Candida, Klebsiella ve Enterobacter* spp.'dir (Tambyah *et al.* 1999). Kateterin yüzeyi, bakteri mikroorganizmalarının üreyi amonyum iyonlarına hidrolize eden ve kabuklanma, enfekte mesane taşı ve idrar tıkanıklığı ile sonuçlanabilen bir enzim olan üreaz üretebilmesi için ideal bir ortamdır. Amonyum iyonları idrar pH'ını yükselterek magnezyum ve kalsiyum fosfat kristallerinin çökelmesine neden olmaktadır (Stickler *et al*. 1998). Çökelme, çekirdeklenme pH'ı (Choong *et al*. 2001) olarak adlandırılan ve üzerinde biyofilm yapılarının oluşabileceği (Ong *et al*. 2008) bir pH'da meydana

gelmektedir. Bu kristaller, bakterileri kateterleri kaplayan veya emdiren bileşiklerin antimikrobiyal etkilerinden koruyan katmanlar oluşturmaktadır (Morgan *et al*. 2009).

2.5.3 Biyofilmler ve tekrarlayan enfeksiyonlar

Bakterilerin neden olduğu akut İYE, orijinal enfeksiyona neden olandan farklı bir suş içerdiğinde "yeniden enfeksiyon" olarak tanımlanan tekrarlayan enfeksiyona yol açabilir veya orijinal UTI'ye dahil olanlarla aynı suşun neden olduğu "nüks" olarak tanımlanır. İdrar yolları genellikle anatomik ve fizyolojik olarak normal olmasına rağmen, tekrarlayan İYE'ler genç, sağlıklı kadınlar arasında yaygındır (Finer and Landau 2004). Akut sistit atağı olan kadınların yaklaşık % 25'i daha sonra tekrarlayan İYE geliştirmekte olup bu da sağlık sistemi için önemli bir yük teşkil etmektedir. Sonuç olarak, etkili önleme ve tedavi yöntemleri geliştirmek için tekrarlayan İYE'ye zemin hazırlayan faktörlerin aydınlatılmasına yönelik çalışmaların sayısının arttırılması teşvik edilmektedir (Madersbacher *et al.* 2000).

2.5.4 *E. coli* tarafından biyofilm oluşumu

E. coli biyofilm oluşumu çalışmaları, yüzey bağlanmasının, hücreler arasındaki etkileşimlerin ve *E. coli* mikro kolonilerinin oluşumunun, tip I, fimbria, poli-β-1,6-N-asetil-D-glukozamin (PGA), antijen 43 (Ag43), proteinli kıvrımlı lifler ve kolonik asit gibi çeşitli faktörlerin dahil olduğunu ima ettiği, değerlendirilecek en eski mikroorganizma modellerinden birini oluşturmuştur (Besharova *et al*. 2016). Ayrıca, biyofilm oluşumunun, ya tutunmayı güçlendirerek, matris üretimini destekleyen yüzey algılamasını kolaylaştırarak veya biyofilm mimarisi ile etkileşime girerek flagella ve hareketlilikten etkilendiği de gösterilmiştir. Ayrıca, *E. coli*'nin yabani izolatları, biyofilmin genel mimarisine bizzat katılabilen selüloz üretmektedir (Serra *et al*. 2013, Belas 2014, Friedlander *et al*. 2015).

E. coli'nin biyofilm oluşumu, matris bileşimi ve yapısal organizasyon dahil olmak üzere tüm mikroorganizmalarda olduğu gibi, besinlerin mevcudiyeti, sıcaklık ve kesme kuvvetleri ile ilgili olarak çevredeki ortamdan etkilenmektedir (Persat *et al*. 2015).

E. coli biyofilmlerinin gelişimine, çoğu biyofilmin hücresel durumlarındaki heterojenliğin kalıtımı tarafından esas olarak gizlenen genlerin ekspresyon seviyelerindeki küresel değişiklikler eşlik etmiştir (Gestel *et al*. 2015).

2.5.5 *K. pneumonia* tarafından biyofilm oluşumu

Enfeksiyon sırasında, *K. pneumoniae*'nin hayatta kalması ve bağışıklık istilası, fimbria, onun antifagositik kapsülü (CPS), lipopolisakkaritler (LPS), membran taşıyıcıları ve sideroforlar dahil olmak üzere çeşitli virülans faktörleriyle ilişkilidir (Chung 2016, Clegg and Murphy 2016). *K. pneumoniae* ayrıca, epitel dokuları ve tıbbi cihaz yüzeyleri üzerinde gelişmeye elverişliliğini artıran biyofilm üretme kabiliyeti nedeniyle konakçı bağışıklık tepkilerinden ve antibiyotiklerden de korunmaktadır (Bandeira *et al*. 2014). *K. pneumoniae*'de biyofilm üretiminde, virülansla ilgili genler ve O-antijenleri sentezlemekten sorumlu enzimleri kodlayarak LPS'nin oluşumuna katılan altı gen kümesi olan kapsül gen kümesi cps ve mrk genleri gibi farklı faktörler rol oynamaktadır (Vuotto *et al*. 2017).

2.5.6 *E. coli* ve *K.pneumonia* tarafından oluşturulan biyofilmlerden sorumlu genler

Bakteriyel yapışma sadece kolonizasyona değil, aynı zamanda istilaya, biyofilm oluşumuna ve konak hücrenin hasarına da katkıda bulunmaktadır (Uhlich *et al.* 2006). *E.coli* suşları ile ilişkili iki birincil fimbriyal yapışıklık, pap (piyelonefrit ile ilişkili pili) geni tarafından kodlanan tip 1 ve P fimbriae'dir (pap). Tip 1 fimbria, büyük ölçüde biyotik ve abiyotik yüzeylerde mannosile edilmiş kısımları tanıyan ve bağlayan FimH uç yapışması ile aracılık edebilir (Wang *et al.* 2013). Konak içinde FimH, *E.coli*'nin mesane epiteline bağlanmasına aracılık etmekte olup mesane epitel hücrelerinde

biyofilm benzeri hücre içi bakteri topluluklarının düzgün oluşumu için gereklidir (Tóth *et al*. 2002). *Klebsiella pneumoniae*, özellikle kateterler gibi kalıcı tıbbi cihazlardan muzdarip hastalarda, hastane topluluğu kaynaklı ve hastane enfeksiyonunun geniş bir yelpazesinden sorumlu fırsatçı bir patojendir (Claudia *et al.* 2014). *K. pneumoniae*, flagellar olmayan ve esas olarak farklı hayvan türlerinin eritrositlerini aglutine etme yeteneği temelinde ortaya çıkan iki tür fimbria veya pili içermektedir (Wang *et al*. 2013). Tip 3 fimbrialar, olgun biyofilm oluşumu için gerekli olmanın yanı sıra, biyotik ve abiyotik yüzeylerde üretilen biyofilmlerin başlamasına aracılık ettiğini göstermiştir (Jeremiah *et al.* 2011, Yang *et al*. 2013). Mannoza dirençli tip 3 pili (T3P veya MR/K), majör pilus alt birimi mrkA'nın ve minör uç adezin mrkD'nin bileşenidir (Maria 2013).

2.6 Antibiyotik Direnci

İYE çok yaygın olduğu için, İYE'ler ve bunlarla ilişkili üriner semptomlar, durumu çözmek için sıklıkla bir antibiyotik gerektiğini öğrenen hastalar tarafından sıklıkla tanınmaktadır. Bu, birçok hastanın hemen hemen her türlü üriner semptom varlığında tedavi aramasına yol açmıştır. Tedavi sıklıkla gerekli olsa da, bu ampirik tedavi kullanımının artmasına ve bazen semptomların aşırı tedavisine katkıda bulunabilir. Reçete edilen tüm antibiyotiklerin yaklaşık % 15'i İYE tedavisi içindir (Mazzariol *et al.* 2017).

2.6.1 Biyofilmler ve antimikrobiyal direnç

Biyofilm statüsünün en önemli avantajlarından biri bu yapıların gösterdiği antimikrobiyal dirençtir. Biyofilm çeşitli mekanizmalar nedeniyle antibiyotiklere planktonik hücrelere göre 1000 kata kadar daha dirençli olabilir (Mack *et al.* 2004, Lewis 2010).

3 MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Çalışmada kullanılan cihazların listesi Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışma sırasında kullanılan aparat.

Araçlar	**Şirket**	**Ülke**
Otoklav	Sakura	Japonya
Santrifüj	Fisher Scientific	ABD
Tek Kullanımlık Petri kapları	Himedia	Hindistan
Mic qPCR Döngüleyici	Bio Molecular System	Avustralya
Mic Tüp	Bio Molecular System	Avustralya
Mikro döngü Santrifüj	My Fugene	Çin
Mikropipet	Human	Almanya
Quantus Florometre	Promega	ABD
Burgaç	Quality Lab System	İngiltere
Enkübatör	Memmert	Almanya
Işık mikroskobu	Optika	İtalya
pH- metre	Sartorius	Almanya
Soğutucu	Beko	Türkiye
Gerçek Zamanlı PCR (RT-PCR)	Bio-Rad	ABD
Su banyosu		Çin
Güvenlik dolabı	Biotec	Kore
Hassas terazi	Daihan Labtech.	Almanya
UV-transillüminatör	Sartorius	ABD
Jel Görüntüleme Sistemi	Major Science	Tayvan
Mikrodalga Fırın	GOSONIC	Çin
OWL Elektroforez Sistemi	Thermo	ABD
Vitek2 Kompakt sistemi	Bio Merieux	ABD
Kamera	iphone 8 plus	Çin

3.1.1 Kimyasallar ve ayıraçlar

Çalışmada kullanılan ayıraçlar ve kimyasallar Çizelge 3.2 dâhilinde sıralanmıştır.

Çizelge 3.2 Ayıraçlar ve Kimyasallar

Kimyasallar ve Ayıraçlar	Şirket	Ülke
Sukroz	Himedia	Hindistan
Glukoz	Himedia	Hindistan
Mutlak Etanol	ROMIL pure chemistry	İngiltere
Etidiyum Bromid Solüsyonu (10 mg / mL)	Promega	ABD
Nükleazsız Su	Promega	ABD
Gliserol	GCC	İngiltere
Oksidaz ayracı	Biomerieux	Fransa
Katalaz ayracı	Vaccine Serum Institute	Irak
Fosfat tampon salin (PBS)	AFCO	Ürdün
Kovacs ayracı	Vaccine Serum Institute	Irak
Tris-asetat – EDTA	Thermofisher	ABD
Fosfat Tampon Tuzlu Su	AFCO	Ürdün
Kristal Mor	AFCO	Ürdün

3.1.2 Kitler

Çalışmada kullanılan kitler Çizelge 3.3'de sıralanmıştır.

Çizelge 3.3 Bu çalışmada kullanılan tüm kitler

Setler	Şirket	Ülke
Gram leke	Himedia	Hindistan
Api 20E	Bio meriux	Fransa
VITEK AST- N222	Biomerieux	Fransa
Toplam DNA ekstraksiyonu	ABIOpure,	ABD
GoTag qPCR Ana Karışım	Promega	ABD
Kuantiflor dsDNA Sistemi	Promega	ABD

3.1.3 Kültür medyası

Çalışmada kullanılan kültür ortamı Çizelge 3.4'de sıralanmıştır.

Çizelge 3.4 Bu çalışmada kullanılan kültür ortamları

Medya	**Şirket**	**Ülke**
Beyin kalp sıvısı	Mast group	İngiltere
Kan agar	Himedia	Hindistan
MacConkey agar	Liofilchem	İtalya
Mueller–Hinton agar	Biomark	Hindistan
Tripton soya suyu (TSB)	Mast group	İngiltere
Kongo kırmızı agar	Himedia	Hindistan
Manitol tuz agar	Mast group	İngiltere

3.1.4 Antibiyotik diskleri

Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri Çizelge 3.5'de sıralanmıştır.

Çizelge 3.5 Mevcut çalışmada kullanılan antibiyotik diskler

Antibiyotik disk	**Şirket**	**Ülke**
Amoxicillin 20 mg /clavulanic asit 10 mg	Mast group	İngiltere
Cefepime 30 µg	Mast group	İngiltere
Cefotaxim (30 mg)	Mast group	İngiltere
Ceftriaxone (30 mg)	Mast group	İngiltere
Caftazidime (30 mg)	Mast group	İngiltere
Cefixime (30 mg)	Mast group	İngiltere
Gentamycin (10 mg)	Mast group	İngiltere
Amikacin (30 mg)	Mast group	İngiltere
Imipenem(10 mg)	Mast group	İngiltere
Meropenem (10 mg)	Mast group	İngiltere
Ciprofloxacin (5 mg)	Mast group	İngiltere
Levofloxacin (5 mg)	Mast group	İngiltere
Nalidixic asit (30 mg)	Mast group	İngiltere
Trimethoprim (5 mg)	Mast group	İngiltere
Nitrofuantoin (300 mg).	Mast group	İngiltere
Norfloxacin (10 mg)	Mast group	İngiltere
Vancomycin (30 mg)	Mast group	İngiltere
Nofloxacin (10 mg)	Mast group	İngiltere
Vancomycin (30 mg)	Mast group	İngiltere

3.1.5 Gen belirlemede kullanılan primerler ve 16s rRNA

Gen belirlemede kullanılan primerler Çizelge 3.6'de sıralanmıştır

Çizelge 3.6 Primerler

Primer Adı	**Sek.**
fimH_type1-F	5`-GAGAAGAGGTTTGATTTAACTTATTG-3`
fimH_type1-R	5`-AGAGCCGCTGTAGAACTGAGG-3`
mrkD_type3-F	5`-CCACCAACTATTCCCTCGAA-3`
mrkD_type3-R	5`-ATGGAACCCACATCGACATT-3`
27F universal	5`-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3`
1492R universal	5`-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3`

3.2 Metot

3.2.1 Sterilizasyon yöntemleri

3.2.1.1 Nemli sıcaklık yoluyla sterilizasyon (Otoklav)

Bu sterilizasyon yöntemi, (Bhowmik 2011) tarafından bahsedilen metodolojiye göre 15 dakika için 15 psi basınç ve 121^0C sıcaklıkta otoklavlama yoluyla büyütülen medyanın sterilizasyonu için kullanılmıştır.

3.2.1.2 Filtrasyonlar

Şekerlerin sterilizasyonu (glukoz ve sukroz), (Rahman 2015)'e göre Miligözenekli filter ile filtrasyon yoluyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.2 Kültür ortamının hazırlanması

3.2.2.1 Beyin kalp enfüzyon suyu

Beyin Kalp Enfüzyonu, üretici şirkete göre hazırlanmış medya ve kültür sayısız zor gelişen ve gelişmeyen organizmalar için kullanılmıştır (Johnson *et al*. 2013).

3.2.2.2 Kan agar

Kan agar plakaları (BAPlar), % 5 – 10 konsantrasyonlu (genellikle koyun veya at) memeli kanu içermektedir. BAPlar, zor gelişen organizmaların izolasyonu ve hemolitik faaliyeti belirlemek için kullanılan zenginleştirilmiş, diferansiyel medyadır. Bu medya üretici şirkete uygun olarak hazırlanmıştır (DSÖ 2002).

3.2.2.3 MacConkey agar

MacConkey Agar, laktozu fermente eden ve laktozu fermente etmeyen Gram negatif enterik basiller arasında mükemmel bir ayrım sağlayan biraz seçici bir besiyeridir.

Bu besiyeri, 51,5 g tozun 1 litre distile su ısısında çözünene kadar süspanse edilmesiyle üretim talimatlarının tavsiyelerine göre hazırlanmıştır.121^{0}C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

3.2.2.4 Mueller–Hinton agar

Kirby bauer yöntemi (disk difüzyon antibiyotik duyarlılık testi) kullanılarak antibiyotik duyarlılığı için kullanılan mikrobiyolojik agar. Bu ortam üretici firmaya göre hazırlanmıştır (Nisha 2015).

3.2.2.5 Tripton soya suyu (TSB)

Aerobik bakterilerin yetiştirilmesinde kullanılan kültür suyudur. Agar karşılığı triptik soya agardır (TSA). Biyofilm oluşumunu test etmek için *P. aeruginosa* yetiştiriciliğinde kullanılan bu su, üretici firmaya göre hazırlanmıştır (BD 2003).

3.2.2.6 Kongo kırmızı agarın hazırlanması

Beyin kalp infüzyon suyu (37 gm/l), sakaroz (5 gm/l), 1 numaralı agar (10 gm/l) ve Kongo kırmızısı boyadan (0,8 gm/l) oluşan medyum. Kongo kırmızısı lekesi konsantre sulu çözelti olarak hazırlanmış olup 121^0C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Daha sonra otoklavlanmış Beyin kalp infüzyon agarına sükroz ile 55^0C'de eklenmiştir. Plakalar test organizması ile aşılanmış olup 37°C'de 24 ila 48 saat aerobik olarak inkübe edilmiştir. Kuru kristal kıvamına sahip siyah koloniler, biyofilm üretimini göstermektedir (Arciola *et al*. 2001, Mathur *et al*. 2006).

3.2.2.7 Agaroz hazırlanması

Toplam 100 mL 1X TAE (Tris-asetat – EDTA) tamponu bir şişe içinde saflaştırıldı.• Tampona 1 gr (%1 için) agaroz eklenmiştir. Daha sonra (%1) agarozun hazırlanması için tampona 1 gr agaroz eklendi Çözelti, tüm jel parçacıkları çözünene kadar kaynama noktasına kadar (Mikrodalga kullanılarak) ısıtıldı. Daha sonra agaroza 1µL Ethidium Bromide (10mg/mL) eklendi. Karıştırmak ve kabarcık oluşmasını önlemek için bir agaroz karıştırıldı ve çözelti 50-60°C'de soğumaya bırakıldı.

3.2.3 Numune toplanması

Bu çalışma Irak'ın Kerkük kentindeki Doğum, Jinekoloji ve Çocuk Hastanesinde Ekim 2020'den Mart 2021'e kadar gerçekleştirilmiştir. Her hastanın adı, yaşı, cinsiyeti, tekrarlayan enfeksiyon, tedavi gören veya olmayan hasta öyküsünün bildirildiği (kültür

için örnek alınmasından önceki 3 gün boyunca antibiyotik alınmaması) formlar düzenlenmiştir.

Bu çalışmada Jinekolojiye göre İYE'li farklı yaş ve lokalitelerdeki kadınlardan 124 idrar örneği toplanmıştır. Temiz- Steril tek kullanımlık kaplara rastgele (30 mL) Temiz idrar numuneleri toplanmıştır. Tüm katılımcıların yazılı onayı alınmıştır.

3.2.4 İdrar analizi

3.2.4.1 Doğrudan muayene

Doğrudan muayene, ayraç test şeritleri (Mission® İdrar Ayracı Şeritleri / ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiş olup sonuç yorumları şerit üreticisinin referans sayfasına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2 Mikroskobik muayene

Her idrar örneğinden on mililitre 3000 rpm'de beş dakika santrifüjlenmiştir. Tortudan bir damla, steril normal tuzlu su damlaları ile karıştırılmış olup (kristaller, kırmızı kan hücreleri, lökositler ve bakteri hücreleri) varlığı açısından bir ışık mikroskobunun (40X) gücü altında doğrudan incelenmiştir. Ayrıca şüpheli İYE örnekleri kültür ortamına aşılanmış olup daha fazla mikrobiyolojik analize tabi tutulmuştur (Tawfeeq *et al.* 2020).

3.2.5 Üropatojenlerin karakterizasyonu

3.2.5.1 İdrar numunesinin kültivasyonu

Toplanan tüm örnekler kan agar, MacConkey agar ve BHI medyasında kültürlenmiş olup 37^0C'de 24 – 48 saat enkübe edilmiştir. Daha sonra gram boyama, koloni

morfolojisi, oksidaz üretim testi, MacConkey agarda laktoz olmayan fermentasyon gözlemi, kan agarda hemolitik aktivite, katalaz testi, koagülaz testi, mızrak alan grubu, biyokimyasal testler ve Epi 20E ile üreme belirlenmiştir (Tawfeeq *et al*. 2020).

3.2.5.2 Biyokimyasal test

Oksidaz testi:

N-tetrametil-p-fenilendiamin ayraç (Benson 2002)'ye uygun olarak oksidaz testi için kullanılmıştır.

Hazırlama: Koyu renkli bir şişede 0,1 gr tetrametilparafenilendiamin dihidroklorür on mL damıtılmış suda çözülerek daha sonra (Wikler 2006)'e göre oksidaz testi için kullanılmıştır.

Prosedür: Filtre kağıdına oksidaz ayraç ilave edildikten sonra (18 – 24) saatlik bir bakteri kolonisi filtre kağıdına aktarılmış olup ayraç üzerine steril bir tahta çubukla ovulmuştur. Otuz saniye sonra mor rengin ortaya çıkması (Cockerill *et al.* 2012)'e göre pozitif sonucu ifade etmektedir.

Katalaz Testi:

Katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesi için slayt yöntemi kullanılmıştır. Bir miktar saf koloni bir tahta çubukla bir cam lam üzerine aktarılmış olup ardından lam üzerine bir damla (% 3) hidrojen peroksit eklenmiştir. Gaz kabarcıklarının varlığı (Zbinden *et al*. 2007) tarafından belirtildiği gibi pozitif bir sonuca işaret etmektedir.

Koagülaz testi: Bu test aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

A) Seçilen koloniler, Brain Heart Broth içeren ayrı kültür tüplerine steril bir aşılama döngüsü ile aktarılmış olup 37°C'de 20 – 24 saat inkübe edilmiştir.

b) Liyofilize tavşan plazmasını 3 mL damıtılmış su içinde EDTA ile rehidre edilmiştir.

c) Yaklaşık 0,3 mL tavşan plazması, steril bir pipet kullanılarak steril bir kültür tüpüne pipetle alınmıştır.

d) Kan Agar üzerinde Staphylococcus'tan elde edilen koloni materyalinin yarım aşılama döngüsü steril kültür tüpündeki plazmaya konur ve 37°C'de inkübe edildi.

e) Tüpler her saat başı hafifçe yana yatırılarak (sallamayın) pıhtılaşma açısından kontrol edildi.

f) Tüp içeriğinin %75'inden fazlası pıhtı oluşturduğunda koagülaz testi pozitif olarak kaydedildi (Sperber and Tatini 1975).

Şeker fermantasyon testi:

Bu test Üçlü Şeker Demir Testi, Üre, Mannitol, Sitrat ve İndolden oluşmaktadır. Prosedür (Harley 2005)'in metodolojisine göre gerçekleştirilmiştir.

Üçlü Şeker Demir Testi: Bu test, Enterbacteriacea üyelerine ait mikroorganizmaların tanımlanmasında yardımcı olmaktadır. Test ortamı 3 şekerden oluşur, Glikoz yüzde 0,1 laktoz ve sükrozun her biri yüzde 1'dir. İndikatör olarak fenol kırmızısı ve demir sülfat kullanılmıştır. Medyum uç ve eğim olarak hazırlanmıştır. Aşılanmış bakteriler glikozu kullanıp glikoz kon. diğer şekerlere kıyasla düşük tutulmuştur. Bakteri hem aerobik hem de anaerobik koşullarda glikozu kullanabiliyorsa, aşılamadan 6 – 8 saat sonra asit üretimi nedeniyle hem eğim hem de uç rengi sarıya dönecektir. Bakteriler sakaroz ve laktozu kullanma yeteneğine sahipse, asit üretimi devam edecek olup ortamın rengi sarı kalacaktır. Sükroz veya laktozu kullanamazsa, bakteri amino asitleri kullanmaya başlar ve fenol kırmızısı nedeniyle ortamın rengini kırmızıya çevirecek ortamı alkali hale getirir. Bakteri katı aerob ise uç rengi değişmeyecek ve reaksiyon sadece eğik olarak gerçekleşecektir. Bakteri fakültatif anaerob ise, her ikisinde de reaksiyon meydana gelir.

Birçok bakteri türü tarafından tiyosülfatın indirgenmesiyle hidrojen peroksit gazı üretimi, yükselen veya Muhammed Shoaib / International Journal of Research Publications (IJRP.ORG) www.ijrp.org agar medyumunun analiziyle kanıtlanmıştır (Harley 2005).

Üreaz Testi: Üreaz enzimi üretme yeteneğine sahip mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılır. Bu enzim, amidohidrolazlar ve fosfodoesteraz süper ailelerine aittir. Üreaz, ürenin NH3 ve karbondioksite hidrolizine neden olur. Amonyak oluşumu ortamın pH'ını alkalin olarak değiştirecek olup pH 8,1'de renk de pembeye dönüşerek pozitif sonuçları gösterecektir (Bailey and Scott 1974).

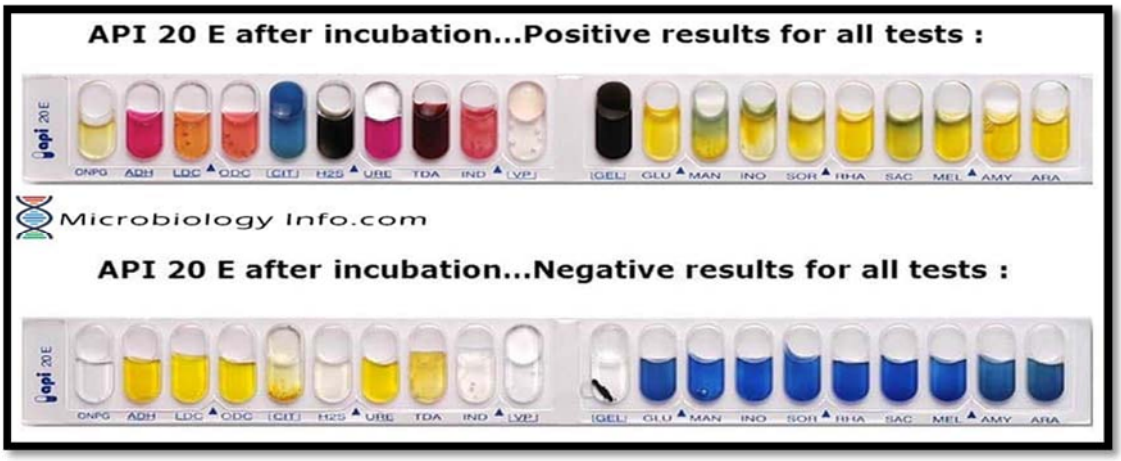
Manitol testi: Manitol medyumu, motilite ve manitol fermentasyonunu belirlemek için uygun yarı katı bir medyumdur. Süspansiyon tarafından üretici firmaya göre 26,04 gram 1000 mL damıtılmış su içinde hazırlanmıştır. Medyumu tamamen çözmek için kaynama noktasına kadar ısıtılmıştır. Test tüplerine dağıtılmıştır. 15 lbs basınçta (121°C) 15 dakika otoklavlayarak sterilize edilmiştir. Tüplü medyum dik konumda soğutulmuştur (MacFaddin 2000).

Sitrat testi: Bu test, Enterobacteriaceae familyasındaki Gram-Negatif basiller arasında ayrım yapmak için kullanılmaktadır. Sitrat agar, bir organizmanın sitratı bir enerji kaynağı olarak kullanma yeteneğini test etmek için kullanılmaktadır. Medyum, tek karbon kaynağı olarak sitrat ve tek nitrojen kaynağı olarak inorganik amonyum tuzları (NH4H2PO4) içermektedir (MacFaddin 2000)

İndol Testi: Aşağıdaki test, triptofanaz enzimi üretme yeteneğine sahip bakterilerin tanımlanmasında yardımcı olmaktadır. Bu enzim, triptofan amino asidi indol gazına dönüştürecektir. Böylece gaz, Ehrlich ayracı veya Kovac ayracı gibi farklı ayraçlar eklenerek kontrol edilebilir. Kovac'ın göstergeleri izoamil alkolde paradimetil amino benzaldehit ve konsantre HCl içerirken Ehrlich'in göstergeleri izoamil alkol yerine etanol içermektedir. İndol gazı ayraç ile reaksiyona girer ve pozitif testi gösteren kırmızı renkli rosindol boyası oluşmaktadır (MacFaddin 2000).

3.2.5.3 API 20 E (Analytical Profile Index) (Biomerieux, Fransa) vasıtasıyla bakterinin tanımlanması

API 20 E Şekil 3.1 de görüldüğü üzere, 21 minyatür biyokimyasal test ve bir veri tabanı kullanan Enterobacteriaceae ve diğer titiz olmayan, Gram negatif çubuklar için standartlaştırılmış bir tanımlama sistemidir. Kuyuların her birini yeniden hidratlamak için bir bakteri süspansiyonu kullanılıp şeritler inkübe edilmektedir. İnkübasyon sırasında metabolizma, kendiliğinden olan veya ayraçların eklenmesiyle ortaya çıkan renk değişiklikleri üretmektedir.



Şekil 3.1 API 20 E (Analytical Profile Index)

3.2.5.4 API STAPH (Analytical Profile Index) (Biomerieux, Fransa) vasıtasıyla bakterilerin tanımlanması

API Staph şeridi, susuz substratlar içeren 20 mikrotüpten oluşmaktadır. Bu mikrotüpler, testleri yeniden oluşturan API Staph Medium içinde hazırlanan bir bakteri süspansiyonu ile aşılanmıştır. İnkübasyon sırasında metabolizma, kendiliğinden olan veya ayraçların eklenmesiyle ortaya çıkan renk değişiklikleri üretmektedir. Reaksiyonlar Okuma Çizelgesuna göre okunup Analitik Profil İndeksine başvurularak veya tanımlama yazılımı kullanılarak tanımlama elde edilmektedir.

3.2.6 Biyofilmlerin karakterizasyonu

3.2.6.1 Antibiyotik duyarlılık testi (AST)

Bu test, iki tür test yoluyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.1.1 Kirby – Bauer (disk difüzyon duyarlılık yöntemi) antibiyotik duyarlılık testi (AST)

İzole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde şu şekilde kullanılır:

1- Mueller-Hinton agar plakasının yüzeyine yaklaşık olarak (1-2x 108 CFU/mL) bakteri üremesi eklenmiş olup gram pozitif *Enterococcus fecalis* için kan agar 37^0C'de 24 saat inkübe edilmiştir.
2- Antibiyotik diskleri (daha önce çizelge 3.5'te bahsedilen) yerleştirilmiştir.
3- Antibiyotik disklerinin büyüme engelleme alanı çevresinde, dereceli cetvel kullanılarak standart suş ile karşılaştırılarak en yakın milimetreye kadar kaydedilmiş olup sonuçlar klinik ve laboratuvar standart enstitüsüne (CLSI) yönergelerine göre duyarlı, orta dirençli veya dirençli olarak yorumlanmıştır (Sambrook and Russel 2001).

3.2.6.1.2 Vitek2 kompakt sistemi (Biomerieux, Fransa) vasıtasıyla antibiyotiğe hassasiyet testi.

Vitek 2 Antimikrobiyal Hassasiyet Testleri (AST) (Şekil3.2) en çok klinik olarak belirgin aerobik gram negatif basiller, *Staphylococcus spp*. *Enterococcus spp*. ve *Streptococcus agalactiae* içindir. Hassasiyet sonuçları 18 saatten daha az bir sürede bakteri için mevcuttur.



Şekil 3.2 Vitek2 kompakt sistem (Biomerieux, Fransa)

Çalışmada kullanılan Süspansiyonun hazırlanması;

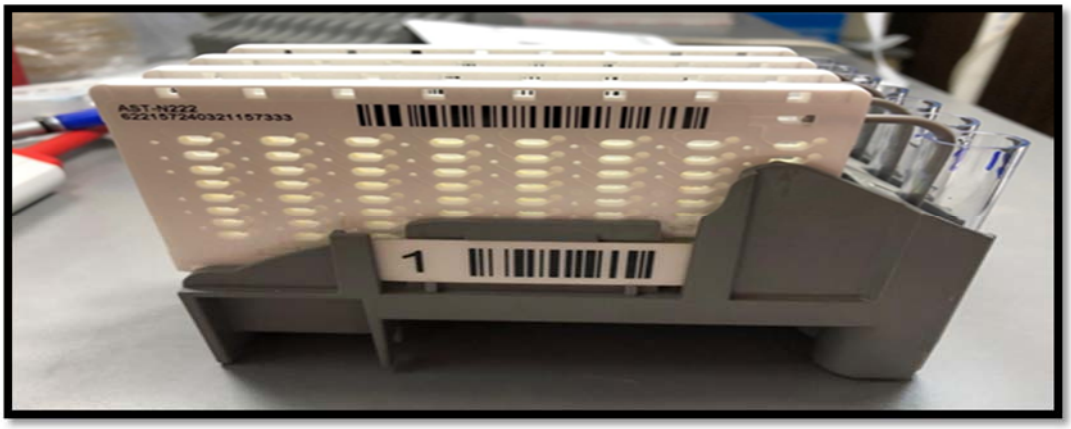
Mikroorganizmayı 12 x 75 mm şeffaf plastik test tüpünde 3,0 mL steril salin [sulu % 0,45 ila % 0,50 NaCl, pH 4,5 ila 7,0] içinde süspanse etmek için saf kültürden steril çubukla yeterli sayıda koloni aktarılmıştır. Bulanıklık buna göre kontrol edilmekte olup (Çizelge 3.7) DensiChekTM adı verilen bulanıklık ölçer ile ölçülmektedir. (Şekil 3.3, Şekil 3.4)

Çizelge 3.7 Kart aşılamada kullanılan süspansiyon bulanıklığı konsantrasyonları:

VITEK 2 Kartı	Kültürün yaşı	McFarland Standardı	Enstrüman Üzerine Yüklemeden Önce Süspansiyonun Yaşı
AST Gram Negatif	8 – 24 saat	0,50 ila 0,63	≤ 30 dakika
AST Gram-Pozitif	18 – 24 saat	0,50 ila 0,63	≤ 30 dakika



Şekil 3.3 Bulanıklık ölçeri göstermektedir (DensiChekTM)



Şekil 3.4 Bu çalışmada kullanılan VITEK AST – N222 kartları (Biomerieux, Fransa)

Aşılama:

1- Mikroorganizma süspansiyonları entegre vakum aparatı kullanılarak kimlik kartlarına aşılanmaktadır.

2- Özel bir rafa (kaset) yerleştirilip transfer tüpü ilgili askı tüpüne takılırken yanındaki yuvaya kimlik kartı yerleştirilmiştir.

3- Doldurulan kaset, manuel olarak (VITEK 2 kompakt) veya otomatik olarak (VITEK 2 ve VITEK 2 XL) bir vakum odası istasyonuna aktarılmaktadır.

4- Vakum uygulanıp tekrar istasyona hava verildikten sonra organizma süspansiyonu transfer tüpünden tüm antibiyotik kuyularını yükleyen mikro kanallara geçirilmiştir.

3.2.6.2 Biyofilm oluşumunun tanımlanması

Çalışma boyunca izole edilen bakteri suşları tarafından biyofilm oluşumunun tanımlanması, aşağıdaki gibi üç yöntemle geçirilmiştir:

Mikrotiter plaka yöntem ile biyofilm oluşumunun değerlendirilmesi (Farhan 2016)

Üropatojenlerin biyofilm oluşturma kabiliyetini analiz etmek için mikrotitre plaka yöntemi kantitatif yöntem kullanılmıştır. Test prosedürü (Farhan 2016) göre aşağıda belirtilmiştir:

1. Üropatojen kültürleri 3 – 5 mL Tripton Soya Suyu içinde aşılanmış olup 24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir.

2. İnkübasyondan sonra, kültürler TSB içinde 1:100 oranında seyreltilmiş olup her seyreltilmiş kültür suyundan 100 µL 96 oyuklu düz tabanlı mikrotitre plakasının her bir oyuğuna pipetlenmiş olup ardından plakalar kapatılmıştır ve 37°C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir.

3. İnkübasyondan sonra kuyunun içeriği aspire edilmiş olup kuyular Fosfat Tampon Tuzlu Su (PBS; pH 7) ile iyice yıkanmıştır. Daha sonra kuyucuklar, her bir kuyucuğa 125 µL % 0,1 Kristal Mor (ağ / hacim) solüsyonu eklenerek 10 dakika boyunca boyanmıştır.

4. Daha sonra leke çıkarılıp plaka temiz musluk suyuyla yıkanmış ve havada kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra boyanan her kuyucuğa 200 µL % 95 Etanol eklenip plaklar oda sıcaklığında 10 – 15 dakika inkübe edilmiştir.

5. Her kuyunun içeriği pipetleme ile karıştırılmış olup daha sonra 125 µL Kristal Mor / Etanol solüsyonu her bir oyuktan optik olarak berrak düz tabanlı 96 kuyulu bir plakanın başka bir kuyucuğuna nakledilmiştir.

6. Bu 125 µL numunelerin her birinin optik yoğunlukları (OD), ELISA okuyucu kullanılarak 630 nm'de ölçülmüştür. Deneyler iki kopya halinde yapılmıştır.

7. Her izolat (ODi) için optik yoğunlukların değeri, çift kuyucukların ortalaması alınarak elde edilmiş olup bu değer, negatif kontrolün (ODc) optik yoğunluğu ile karşılaştırılmıştır.

8. İzolatlar, ODc sonuçlarına göre ortalama optik yoğunluklara (OD) göre dört kategoriye ayrılmıştır. Kategoriler aşağıdaki kriterlere dayanmaktadır: ODi ≤ ODc ise uyumsuz; ODc < ODi ≤ 2 x ODc ise zayıf bağlı (+); 2 x ODc < ODi ≤ 4 x ODc ise orta derecede bağlı (++); veya 4x ODc < ODi ise güçlü bir şekilde bağlı (+++).

Kongo Kırmızı agar vasıtasıyla biyofilm oluşumunun tanımlanması

Bu prosedür (Mathur *et al.* 2006) tarafından aşağıdaki şekilde bahsedilmiştir:

1- Beyin kalp infüzyon suyu (37 gm/l), sakaroz (5 gm/l), 1 numaralı agar (10 gm/l) ve Kongo Kırmızı boya (0,8 gm/l).
2- Kongo kırmızı boya konsantre sulu çözelti olarak hazırlanmış olup 121^0C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.
3- Daha sonra sukrozlu otoklavlanmış Beyin kalp infüzyon agarına 55^0C'de ilave edilmiştir.

4- Plakalar test organizması ile aşılanmış olup aerobik olarak 37^0C'da 24 – 48 saat inkübe edilmiştir.
5- Kuru kristal kıvamına sahip siyah koloniler, biyofilm üretimini göstermiştir

3.2.6.3 Tüp yöntemi

Bu yöntem (Christensen *et al.* 1982, Mathur *et al*. 2006) literatüede belirtildiği gibi uygulanmıştır.

3.2.7 Moleküler karakterizasyon

3.2.7.1 DNA ekstraksiyonu

Genomik DNA, aşağıdaki adımlar şeklinde ABIOpure Çıkarım protokolüne göre bakteri üremesinden izole edilmiştir:

• 13000 rpm'de 2 dakika boyunca 1 mL gece kültürü. Süpernatant daha sonra atılmıştır.

• Hücre peleti 200 µL Tampon CL içinde tamamen yeniden süspanse edilmiştir.

• Protein sindirimi ve hücre lizizi için 200 µL Tampon CL ve hücre peletine 20 µL Proteinaz K solüsyonu (20 mg/mL) ilave edildikten sonra tüp vorteks ile kuvvetlice karıştırılmış olup 56˚C'de 30 dakika daha inkübe edilmiş olup daha fazla lizis için 70˚C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.

• İnkübasyondan sonra numuneye 200 µL Tampon BL eklenmiş olup tüp vorteks ile kuvvetlice karıştırılmış ve 70˚C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.

• Numuneye mutlak etanolden 200 µL ilave edilmiş olup numuneyi iyice karıştırmak için pulse-vorteks kullanılmıştır.

• Tüm karışımlar dikkatli bir şekilde mini kolona aktarılmış olup ardından 6.000 x g'de (> 8,000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir ve toplama tüpü yenisiyle değiştirilmiştir.

• Tampon BW'den 600 µL mini kolona eklenmiş olup ardından 6,000 x g üzerinde (> 8,000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir ve toplama tüpü yenisiyle değiştirilmiştir.

• Tampon TW'den 700 µL uygulanmıştır. 1 dakika boyunca 6,000 x g'de (> 8000 rpm) santrifüjlenmiştir. Geçiş atılmış olup mini kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

• Mini kolon, kalan yıkama tamponunu çıkarmak için 1 dakika boyunca tam hızda (> 13,000 x g) santrifüjlenmiş olup ardından mini kolon yeni bir 1,5 mL tüpe yerleştirilmiştir.

• Tampon AE'den 100 µL eklenip oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildikten sonra 5,000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir.

3.2.7.2 DNA'nın nicelendirilmesi

Quantus Florometre, sonraki uygulamalar için numunelerin kalitesini tespit etmek amacıyla ekstrakte edilmiş DNA konsantrasyonunu tespit etmek üzere kullanılmıştır. 1 µL DNA için 199 µL seyreltilmiş Quantifluor Boya karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 5 dakikalık inkübasyondan sonra DNA konsantrasyon değerleri tespit edilmiştir.

3.2.7.3 E.coli ve K. pneumoniaea için 16S rRNA'nın moleküler belirlenmesi

3.2.7.3.1 Primer hazırlama

Yapılan hazırlık Çizelge 3.8 de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8 *E.coli* ve *K. pneumoniaea* için primer hazırlığı 16S rRNA

Primer Adı	Nükleaz içermeyen suyun hacmi (µL)	Konsantrasyon (pmol / µL)
27F	300	100
1492R	300	100

Bu primerler Macrogen Company tarafından liyofilize formda sağlanmıştır. Liyofilize primerler, bir stok solüsyonu olarak 100 pmol/µL'lik bir nihai konsantrasyon verecek şekilde nükleaz içermeyen bir su içinde çözündürülmüştür. Bu primerlerin bir çalışma solüsyonu, 10 pmol / µL'lik bir çalışma primer solüsyonu elde etmek için 90 µL nükleaz içermeyen suya 10 µL primer stok solüsyonu (-20°C'de saklanan) eklenerek hazırlanmıştır. (Çizelge 3.9, Çizelge 3.10, Çizelge 3.11)

Çizelge 3.9 Reaksiyon Ayarı

Reaksiyon Sayısı	2	Rxn	Primerlerin sertleşme sıcaklığı	60
Reaksiyon Hacmi / çalışma	25	ML	PCR ürününün uzunluğu (bp)	1400
		%	PCR Döngülerinin Sayısı	30

Çizelge 3.10 Termel Döngü Protokolü

Ana karışım bileşenleri	**Stok**	**Birim**	**Nihai**	**Birim**	**Hacim**
					1 Numune
Ana Karışım	2		1	X	12.5
İleri primer	10	Mm	1	µM	1
Geri primer	10	µM	1	µM	1
Nükleaz İçermeyen Su					8,5
DNA		ng/µL		ng/µL	2
Toplam hacim					25
Tek rxn başına külçe	Tüp başına 23 µL'lik Ana karışım ve 2 µL'lik Taslak ekleyin				

Çizelge 3.11 PCR Program

Aşamalar	**°C**	**d:s**	**Döngü**
İlk Denşirme	95	05:00	1
Denşirme	95	00:30	30
Sertleştirme	60	00:30	
Uzatma	72	01:00	
Nihai uzatma	72	07:00	1
Tutma	10	10:00	

3.2.7.3.2 Agaroz jel elektroforezi

PCR yükseltmesinden sonra, yükseltmenin varlığını doğrulamak için agaroz jel elektroforezi uygulanmıştır. PCR, çıkarılan DNA kriterlerine tamamen bağlıydı.

3.2.7.3.3 Yatay agaroz jelin dökülmesi

Her iki kenarı selofan bantlarla kapatıldıktan sonra agaroz solüsyonu jel tepsisine dökülmüş olup agaroz oda sıcaklığında 30 dakika katılaşmaya bırakılmıştır. Tarak dikkatlice çıkarılmış olup jel, jel tepsisine yerleştirilmiştir. Tepsi, tampon, jel yüzeyi üzerinde 3 – 5 mm'ye ulaşana kadar 1X TAE-elektroforez tamponu ile doldurulmuştur.

3.2.7.3.4 DNA yükleme

PCR ürünleri doğrudan yüklenmiştir. PCR ürünü için 5 µL doğrudan kuyuya yüklenmiştir. Elektrik gücü 60 dakika boyunca 100 v/mAmp'de açılmıştır. DNA, Katottan artı Anot kutuplarına hareket etmiştir. Jel içindeki etidyum bromür lekeli bantlar, Jel görüntüleme sistemi kullanılarak görüntülenmiştir.

3.2.7.4 E.coli ve K. pneumoniaea'daki genlerin (fim H ve mrk D) moleküler tespiti

3.2.7.4.1 Primer hazırlama

Bu Primerler Macrogen Company tarafından liyofilize formda sağlanmıştır. Liyofilize primerler, bir stok solüsyonu olarak 100 pmol/µL'lik bir nihai konsantrasyon verecek şekilde nükleaz içermeyen bir su içinde çözündürülmüştür. Bu primerlerin bir çalışma solüsyonu, 10 pmol / µL'lik bir çalışma primer solüsyonu elde etmek için 90 µL nükleaz içermeyen suya 10 µL primer stok solüsyonu (-20°C'de saklanan) eklenerek hazırlanmıştır. (Çizelge 3.12, Çizelge 3.14, Çizelge 3.14)

Çizelge 3.12 PCR Bileşen Hesaplama

Reaksiyon Sayısı	20	rxn	Primerlerin sertleşme sıcaklığı	60
Reaksiyon Hacmi / çalışma	10	µL	Primer Sayısı	2
Güvenlik Marjini	5	%	PCR Döngülerinin Sayısı	40

Çizelge 3.13 Ana Karışımın Tanımı

Ana karışım bileşenleri	**Stok**	**Birim**	**Final**	**Birim**	**Hacim**	
					1 Numune	16.05 Numune
Ana Karışım	2	X	1	X	5	80,3
İleri primer	10	µM	1	µM	0,5	8,0
Geri primer	10	µM	1	µM	0,5	8,0
Nükleazsız Su					3	48,2
DNA		ng/µL		ng/µL		
Toplam hacim					10	

Çizelge 3.14 Gerçek Zmanlı PCR Programı

Aşamalar	**°C**	**d: s**	**Döngü**
İlk Denşirme	95	05:00	1
Denşirme	95	00:20	40
Sertleştirme	58 veya 62	00:20 Yeşil üzerinde edinme	
Uzatma	72	00:20	

3.2.7.5 Standart sekanslama

PCR ürünleri, Macrogen Corporation – Kore tarafından otomatik DNA dizileyici ABI3730XL kullanılarak Sanger dizilimi için gönderilmiştir. Sonuçlar e-posta ile alınıp ardından genlerle ilgili bir yazılım kullanılarak analiz edilmiştir.

4 BULGULAR

4.1 Numune Toplama

Bu çalışma Irak – Kerkük ilinde Kadın Doğum Ve Çocuk Hastanesinde Ekim 2020-Mart 2021 tarihleri arasında farklı yaş goruplarda ki ve farklı bölgelerdeki 124 kadınlardan idrar örneği alınarak gerçekleştirilmiştir.

Hasta yaşları 15 ile 65 arasında değişmektedir. Örneklerin (makroskopik ve mikroskobik inceleme sonuçları) Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Çalışma esnasında toplanan idrar numunelerinin mikrokobik incelemesinin sonuçları

Mikroskobik özellikler	Yüzde olarak sonuçlar
Alyuvar hücreleri	% 12,09
İrin hücresi (PNL, Piyüri)	% 72,5
Epitel hücre	% 70,16
Kristaller	% 9,6
Bakteriler	% 74,19
Mantar , maya hücreleri	% 7,25

Çalışmaya dahil edilenlerin yaşlarına göre enfeksiyon insidansı analiz edilmiş olup ve sonuçlar aşağıdaki Çizelge 4.2 görüldüğü gibidir.

Çizelge 4.2 Yaş dağılımı ile bağlantılı idrar yolu enfeksiyonları.

Yaş	**Kültür Pozitif numune sayısı**	**%**
15 – 25	33	% 34,3
25 – 35	32	% 33,3
35 – 45	16	% 16,6
45 – 55	6	% 6,25
55 – 65	9	% 9,3

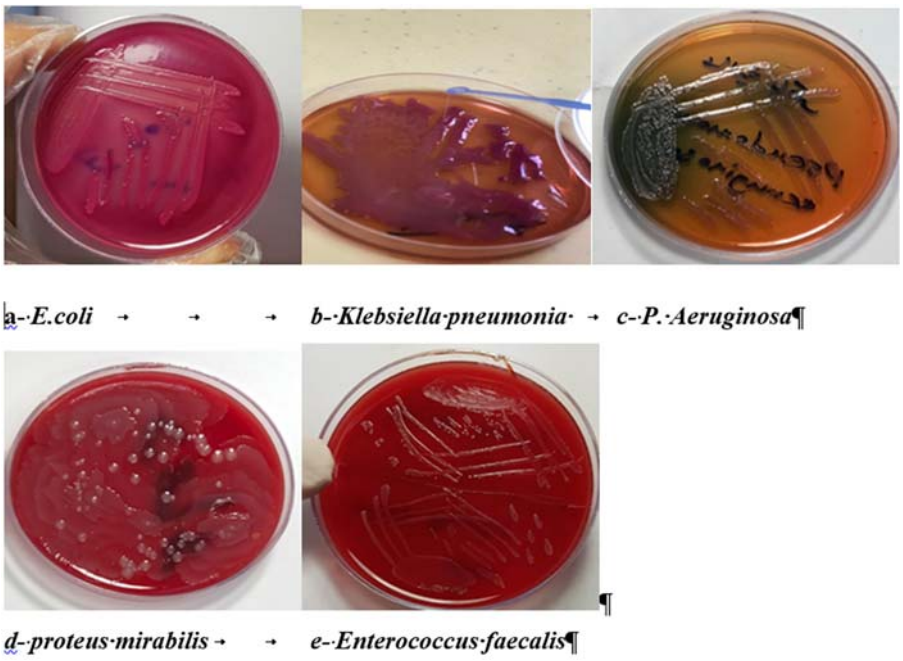
Belirgin bakterileri 96/124 (% 77,4) oranında gözlenmiştir. Bakteriyel İYE prevalansı, Çizelge 4.2'de gösterildiği gibi en düşük oran % 6,25 (6\96) insidansı ile (45–55) yaş

grubunun gözlenirken, % 34,3 (33\96) insidans oranıyla (15–35) yaş grubunda en yüksek olarak saptanmıştır.

4.2 Üropatojenlerin Karakterizasyonu

4.2.1 İdrar numunesinin ekimi

Aşağıdaki koloni morfolojisi özelliklerini (şekil, boyut, yüzey dokusu, kenar ve yükseklik, renk ve opaklık) gözlemlemek için makroskopik olarak incelenmiştir. Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 MacConkey ve kanlı agarda bakteri koloni görünümü

MacConkey agarda üreyen isolatların büyük parlak pembe kolonileri ve zayif laktoz fermentasyon aktivitesinin (Zinnah *et al.* 2007) idrar örneklerinde yüksek *E.coli* insidandansını göstermektedir (Şekil 4.1–(a)) .

Ayrıca, üreyen kapsülü, büyük, mukoid, pembe renkli koloniler *Klebsiella pneumonia* bakerisinin olasılığını göstermektedir. *P. aeruginosa*'nın diğer bakterilerden, özellikle

(Gram negetif bakterilerden, *E. coli* ve *Klebsiella* türlerinden) ayırt edilmesinde büyük önem taşıyan laktoz fermentasyonudur. *Pseudomonas aeruginosa* laktozo fermente etmemesinden dolayı kolonileri renksizdir. *P. aeruginosa* bakterisi 4 tip pigment üretmekte olup bu pigmentler çevreleyen ortama yayılmaktadır ve ortama *Pseudomonas aeruginosa*'nın şüpheli üremesini gösteren karakteristik bir renk vermektedir, Şekil 4.1(c)'de. *P. aeruginosa* izolatlarnın Pyocyanin Blueish- üretmekte ve ortaya yaydığı yeşil pigment ile doğrulanmıştır (Bettey *et al.* 2007).

Ayrıca, Şekil 4.1(d)'nin görüldüğü gibi, (Howery *et al.* 2015) tarafından beyan edilen ve kanlı agarda eşmerkezli dairelerin ince filmsi bir katman oluşturarak dalgalar halinde üremesi *proteus mirabilis* olasığını göstermektedir. Şekil 4.1(e)'de gösterildiği gibi kanlı agarda γ-hemoliz oluşturan küçük pürüzsüz koloniler olası *Enterococcus faecalis* izolatları ürediğini göstermektedir.



Şekil 4.2 Manitol tuz agarınd Staphylococcus aureus görünümü.

Staphylococcus aureus, Manitol tuz agarında sarı bölgelerle çevrili küçük koloniler Şekil 4.2'de göstermektedir. Bu renk değişikliğinin nedeni, S. aureus'un mannitolü fermente etme ve gösterge rengini kırmızıdan sarıya çeviren bir asit üretme kabiliyetine sahip olmasıdır.

4.2.2 Biyokimyasal testler

Biyokimyasal testler izole edilen üropatojenlerin tanımlanması için gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 İzole edilen üropatojenlerinin Gram boyama ve Biyokimyasal testlerin sonuçları.

Üropatojenler	Gram boyama	Katalaz	Koagülaz	Oksidaz	Üçlü Şeker Demirin	Üre	Yarı katı Manitol	Sitrat	İndol
E .coli	-	+	-	-	**A\A Gas +ve H2S -ve**	-	+	-	+
K. pneumonia	-	+	-	-	**A/A Gas +ve H2S -ve**	+	+	+	-
Pse. aeruginosa	-	+	-	+	**k\k Gas +ve H2S -ve**	-	-	+	-
P. mirabilis	-	+	-	-	**K\A Gas +ve H2S+ve**	+	-	+	-
S. aureus	+	+	+	-	**A\A Gas –ve H2S +ve**	+	+	+	-
Ent. faecalis	-	-	-	-	**A\K Gas -ve H2S -ve**	-	+	-	-

4.2.3 API sistemi ile bakteri tanımlanması

Sonuçlar API 20 E (Biomerieux, Fransa) ve API STAPH (Biomerieux, Fransa) sistemleri kullanılarak doğrulanmıştır. API-20E sistemi kullanılarak Enterobacteriaceae ailesinde yer alan 4 cins bakteri (*E.coli, K. pneumonia, Pse. aeruginosa, P. mirabilis*) tanımlanması teyit edimiştir (Şekil 4.3). API STAPH sistemi kullanılarak S*taphylococcus aureus* tanısını teyit edilmesi için kullanılmıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.3 API 20 E sistemi ile bakterinin tanımlanması



Şekil 4.4 API STAPH sistemi ile bakterilerin tanımlanması

Çizelge 4.4 Mikrobiolojik prosedürler kulanılarak 124 adet idrar örenklerinde isole edilen 96 adet isolat türlerinin sayısı ve yüzdesi

Bakteri izolatlarının türü	Kültür positif isolatların sayısı ve yüzdesi
E.coli	48 (% 38,7)
Klebsiella pneumoniae	23 (% 18,5)
Pseudomonas aeruginosa	8 (% 6,4)
Proteus mirabilis	6 (% 4,8)
Staphylococcus aureus	8 (% 6,4)
Enterococcus faecalis	4 (% 3,2)
Toplam sayı ve yüzde	96 (% 77,4)

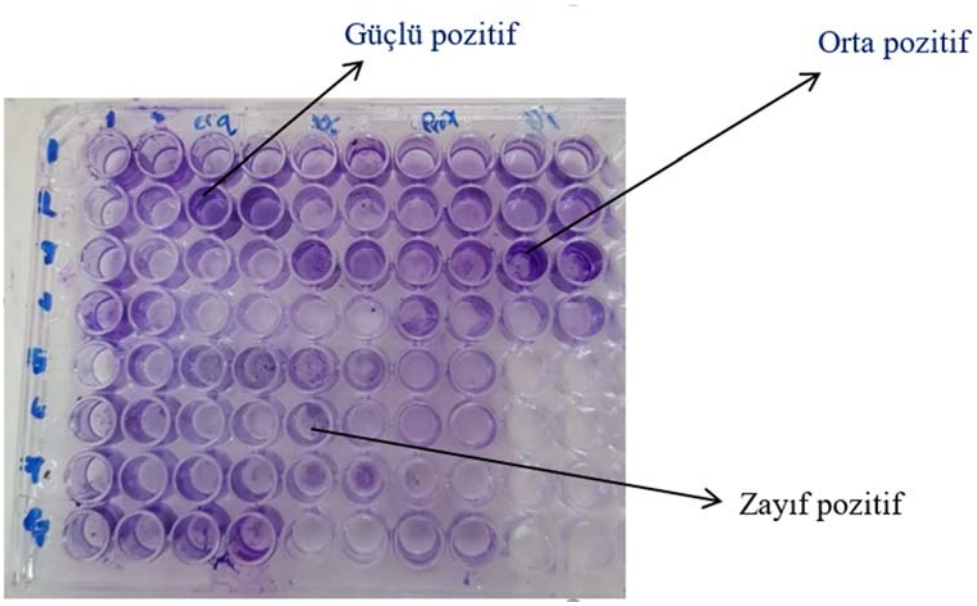
Çizelgede görüldüğü gibi en yüksek insidans %38,7 ile *E.coli* ve %18,5 *K.pneumoniae* görülmektedir.

4.3 Biyofilmlerin Karakterizasyonu

4.3.1 Biyofilm oluşumunun tanımlanması

4.3.1.1 Mikrotiter plaka yöntemi ile biyofilm oluşumunun değerlendirilmesi (Farhan 2016)

Araştırılan suşların süspansiyonları, iki gün boyunca 35°C'de Beyin Kalp infüzyon Sıvısı (BHI) ile cam tüplerde aerobik olarak inoküle edilmiştir. Daha sonra Süpernatant atılmış olup cam tüp yüzde 0,1 safranin solüsyonuyla boyanmıştır ve ardından üç kez damıtılmış suyla yıkanıp kurutulmuştur. Tüplerin iç duvarında lekeli bir tabakanın varlığı olumlu bir sonuç olarak kabul kabul edilmiştir. Tek başına sıvı-hava temasında lekeli bir halkanın varlığı, positif Mikrotiter plakası olarak kabul edimektedir (Şekil 4.5)

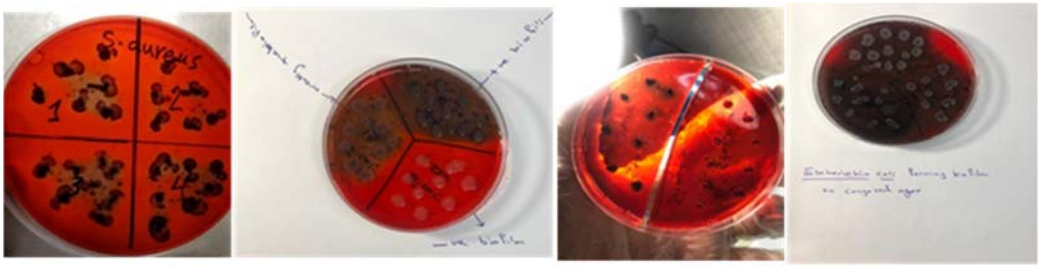


Şekil 4.5 Mikrotiter plaka yöntem ile biyofilm formasyonu

4.3.1.2 Kongo kırmızı agar yöntem ile biyofilm oluşumunun tanımlanması

Kültür ve biyokimyasal testten sonra ortaya çıkan sonuca göre özel olarak tasarlanmış ve hazırlanmış Kongo Kırmızı agarı içeren plaklara inoküle edilmiş olup aerobik olarak

37°C'de 24 – 48 saat inkübe edilmiştir. Kuru kristal kıvamına sahip siyah koloniler positif kabul edilmiştir (Pramodhini *et al.* 2012) . Koyu siyahtan tam siyaha kadar renkli koloniler, tipik bir biyofilm pozitif fenotipi olarak kabul edilmiştir (Şekil 4.6)



Şekil 4.6 Kırmızıdan, koyu kırmızı ve siyaha kadar değişen üç değişik belirgin renkli Kongo kırmızı agardaki *Staphylococcus spp. E.coli ve K. pneumoniae*

4.3.1.3 Tüp yöntemi

Tüp yünteminde , tüplerin bazılarında görünür bir film tabakasını tüpün duvarını ve altını kapladığında biyofilm oluşumu pozitif olarak kabul edilir Şekil 4.7. Sıvı ara yüzeyinde halka oluşumu, biyofilm oluşumunun göstergesi değildir. Tüpler incelenmiş olup biyofilm oluşumu miktarı 0 – yok, 1 – zayıf, 2 – orta veya 3 – güçlü olarak puanlanmıştır. Deneyler üç kopya halinde yapılmış olup üç kez tekrarlanmıştır. Kalitativ tüp yapışma testi, bağlılık derecesinin görsel değerlendirmesine bağlıdır (Taj *et al*. 2012).



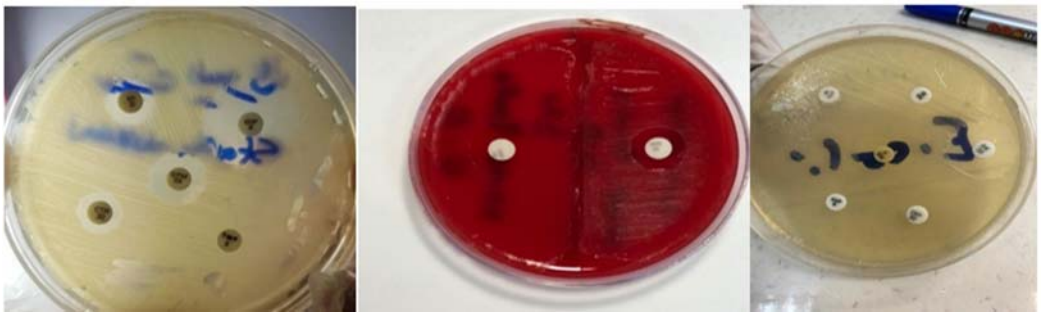
Şekil 4.7 Biyofilmin saptamasında Tüp Yöntemi

Çizelge 4.5 İzole bakteri suşlarında biyofilm oluşumunun sonuçları

İzole bakteri	**İzole bakteri sayısı**	**Biyofilm pozitif**
E.coli	48	25
Klebsiella pneumoniae	23	16
Pseudomonas aeruginosa	8	5
Proteus mirabilis	6	3
Staphylococcus aureus	8	8
Enterococcus faecalis	4	3

4.4 Antibiyotik Duyarlılık Testi (AST)

Biyofilm oluşumunun üropatojenik izolatlarının antibiyotiklere karşı dirençli paterni üzerindeki etkisini belirlemek için tanımlanan tüm bakteri suşları, antibiyotik duyarlılık testine (AST) tabi tutulmuştur (Şekil 4.8). Farklı antibiyotik duyarlılıkları testleri Çizelge 4.6'da gösterildiği gibidir



Şekil 4.8 Antibiyotik duyarlılık testi

Çizelge 4.6 Üropatojin izolatların değişik antibiyotiklere karşı duyarlılıkları

Antibiyotikler	*E.coli* (48)		*K.pneumonia*(23)		*P. aeruginosa* (8)			*P. mirablis*(6)		*S. aureus*(8)		*E. faecalis* (4)	
	R	S	R	S	R	I	S	R	S	R	S	R	S
CPM 30 mg	%81	%18,7	% 52	% 47,8	% 25	% 12,5	%62,5	0	%100				
CTX 30 mg	%20	%60											
CRO 30 mg	%25	%66,6	%58	% 47	% 25	%12,5	%62.5			%37,5	%62,5		
CAZ 30 mg	%18,7	%56	%52	%30,4				%16,6	%83,3				
CFM 30 mg	% 37,5	%62	%78	%21,7				%33,3	%66,6				
GN 10 mg	% 18,7	%81,2	%39	%60,4	%25		% 75	%16,6	%83,3				
AK 30 mg	% 4	%95,8	%4,3	%95,6	%12,5		%87,5	0	100%				
IMP 10 mg	%8,3	%91,6	%4,3	%95,6	%37,5		%62,5	%66,6	%33,3				
MEM 10 mg	%8,3	%91,6	0	%100	%12,5		%87,5	%33,3	%66,6				
CIP 5 mg	%72,9	%27	%39	%60,8	%37,5	% 12.5	%50	%50	%50	%37,5	%62,5	%25	%75
LVX 5 mg								%33,3	%66,6				
NA 30 mg	%**47**	%52	%42	%57,8						%12.5	%87,5		
TMT 5 mg	%52	%47	%33	%66,6				%83	%17	%63	%37,5		
NIT 300 mg	%6,2	%93,7	%42	%57,8				%50	%50	%12,5	%87,5	0	%100
NOR 10 mg			%21	%78,9								%75	%25
VAN 30 mg										%50	%50	%75	%25
TC	%**66**	%33	% 83	%16,6	%50		%50	0	%100				
TCC	%4,1	% 77,7	%16,6	%83	%25		%75	%16,6	%83,3				
PIP	%77,7	%4,1	% 6	%43,4	%50		%50	0	%100				
P/T	%11	%88,8			0		%100	0	%100				
ATM	%77	%33,3	%78	%21				%16,6	%83,3				
TOB	%44	% 55,5			%12,5		%87,5	0	%100				

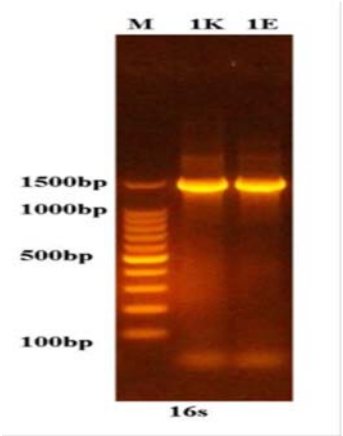
(CPM; Cefepime, CTX; Cefotaxim, CRO; Ceftriaxone, CAZ; Caftazidime, CFM; Cefixime, GN; Gentamycin, AK; Amikacin, IMP; Imipenem, MEM; Meropenem, CIP; Ciprofloxacin, LVX; Levofloxacin, NA; Nalidixic acid, TMT; Trimethoprim, NIT; Nitrofuantoin, NOR; Norfloxacin, VAN; Vancomycin, TC; Ticarcillin, TCC; Ticarcillin/Clavulanic Acid, PIP;Pipracillin, P/T; Pipracillin/tazobactam, ATM; Aztreonam, TOB; Tobramycin.)

Çizelge incelendiğinde, çoğu bakteri izolatının, özellikle Ciprofloxacin ve Trimetoprim'e antibiyotiklerine karşı oldukça dirençli olduğu, Gentamisin, Amikasin ve Meropenem antibiyotiklerine ise çoğu izolata karşı güclü antibakteriyel etkiyi sağladığını göstermiştir.

4.5 *E.coli* ve *K. pneumonia* için 16S rRNA'nın Moleküler Belirlenmesi

İzole edilen *E. coli ve K. pneumonia* suşu artan bir biyofilm aktivitesi gösterdiğinden, önce üropatojenlerin karakterizasyonunu doğrulamak ve ikinci olarak biyofilm oluşumundan sorumlu genleri saptamak için moleküler analize tabi tutulmuştur.

Buna göre, *E. coli ve K. pneumonia* izole suşlarının 16S rRNA gen dizisinin moleküler tanımlaması, (Anand *et al.* 2006) tarafından belirtilen protokolleri izlemiş olup sonuçlar Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



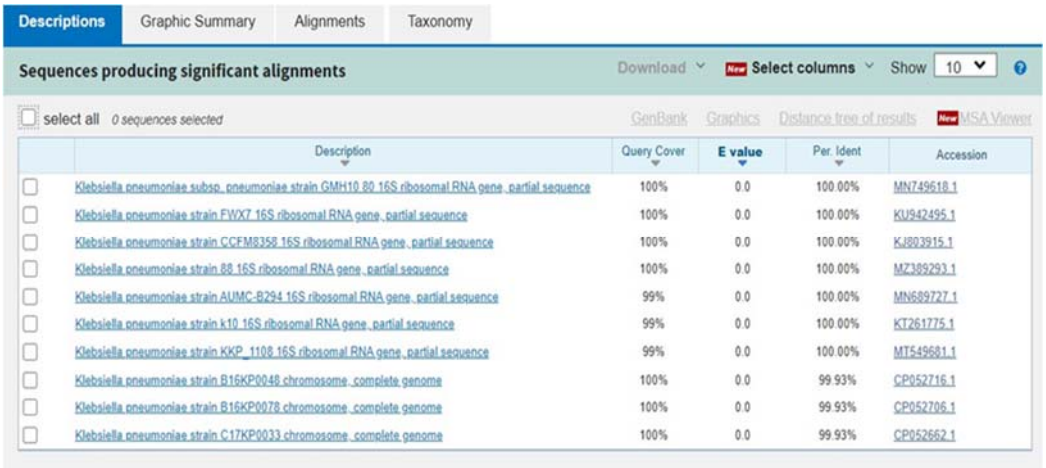
Şekil 4.9 Eth Br. M: 100 merdiven işaretleyici ile boyanmış % 1 agaroz jel elektroforezi üzerinde fraksiyone edilmiş *E. coli* ve *K. pneumonia* izole suşlarının 16s RNA geninin amplifikasyonunun sonuçlarını gösteren jel resmi

Şeritler 1K-1E, 1500 bp PCR ürünlerine benzer.

Buna uygun olarak, izole edilmiş iki suş, 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' ve (1492R) 5'`-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3` sekansı ile 60C (27F) annealing sıcaklığının iki evrensel primeri kullanılarak 16SrRNA gen sekansının (1500 bp) ürün boyutunda iki amplikon göstermiştir. Aynı sonuçlar, klozetlerden izole edilen *E. vulneris*'in tanımlanması için aynı protokolü kullanarak 2020'de Tawfeeq *et al*. tarafından elde edilmiştir (Tawfeeq *et al*. 2020).

Sonra, PCR ürünleri Sanger dizilemesi için AB13730XL, Macrogen Corporation /Kore tarafından otomatik DNA dizileyici kullanılarak gönderilmiş olup sonuçlar e-posta ile alınmıştır, ardından iki izolatın standart dizilimi için yazılım programı kullanılarak analiz edildi. BLAST sonuçları Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir.

Numune 1K;

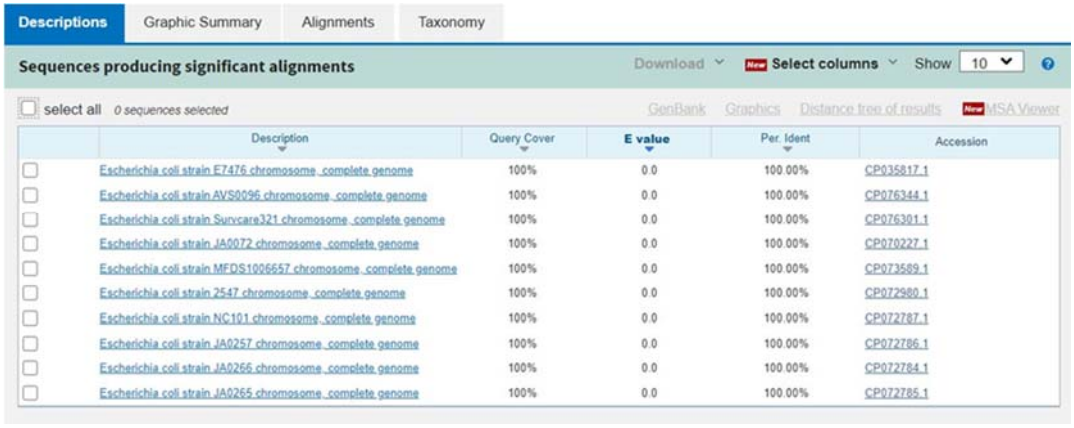


Şekil 4.10 Numune 1K DNA (*Klebsiella pneumoniae*) kısmı genomik sekanslanmasının veri analizi

1K DNA dizilemesinin BLAST'ı, yukarıdaki şekilde gösterildiği gibi sorgu başına (% 99,93 – 100,00) özdeşliğe sahip on kayıtlı *Klebsiella pneumoniae* suşu ile önemli bir hizalanma göstermiştir.

Buna uygun olarak, 1E DNA dizilemesinin BLAST'ı, Şekil 4.11'de gösterildiği gibi sorgu başına (%100,00) özdeşliğe sahip on kayıtlı *E. coli* suşu ile önemli bir hizalanma göstermiştir.

Numune 1E;



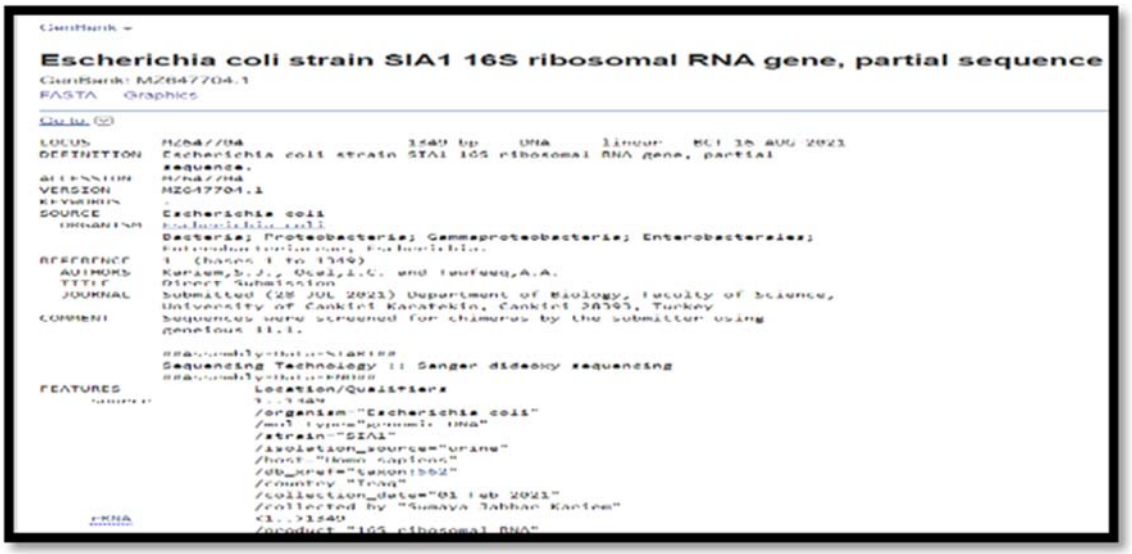
Şekil 4.11 Numune 1K DNA (*E. coli*) kısmi genomic sekanslamasının very analizi

Sonuç olarak, iki suş, Çizelge 4.7 ve Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te gösterildiği gibi, sırasıyla *E. coli* izolatı için MZ647704 ve *Klebsiella pneumoniae* izolatı için MZ647716 erişim numarası altında NCBI'ye kaydedilmiştir.

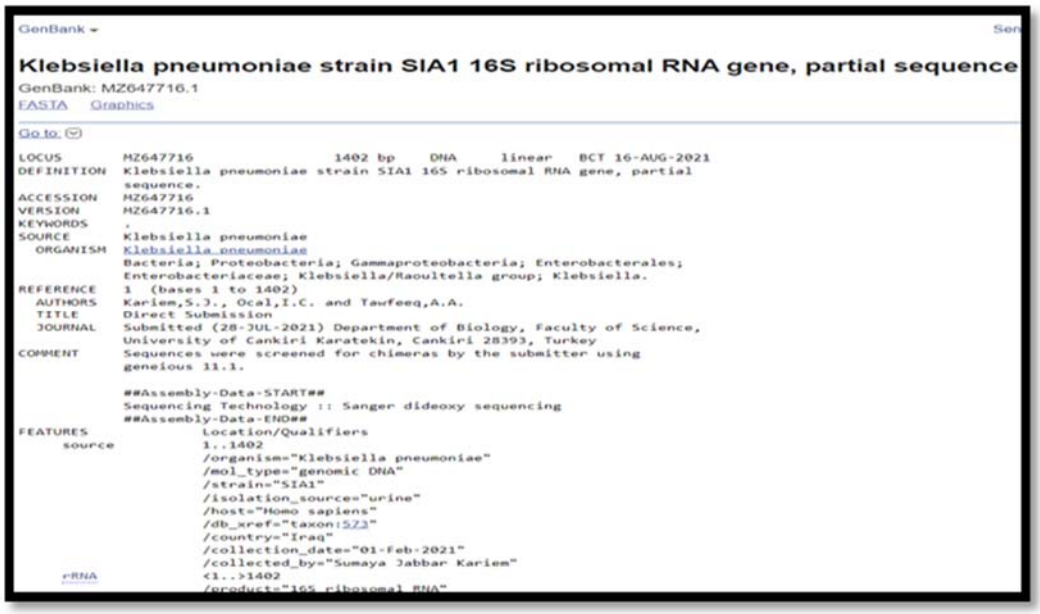
Çizelge 4.7 Bu çalışmanın kısmı dizilimi 1E ve 1K 16S Ribozomal RNA gen dizisinin Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) kayıtlarının GenBank nükleotid dizisi ve erişim numarası.

Numune No.	**Mevcut çalışmanın kaynak organizması**	**Öğrenci Sunumuna gore boya adı**	**NCBI GenBank erişim no.**	**16SrRNA Lokus**	**Ürün**
1E	*E. coli*	*E. coli SIA1*	MZ647704	1349 bp	Lineer 16S rRNA

1K	*K.pneumonia*	*K.pneumonia SIA1*	MZ647716	1402 bp	Lineer 16S rRNA



Şekil 4.12 Temmuz 2021 itibariyle NCBI GenBank'daki Escherichia coli suşu SIA1 16S Ribozom RNA kısmi gen sekans kayıtları.



Şekil 4.13 Temmuz 2021 itibariyle NCBI GenBank'daki *Klebsiella pneumoniae* suşu SIA1 16S Ribozom RNA kısmi gen sekans kayıtları.

Şekil 4.14 a ve b'deki gösterimde, sırasıyla hem *E. coli* SIA1 hem de *K. pneumoniae* SIA1 suşlarının lineer 16S Ribozomal RNA genlerinin grafiklerini göstermiştir.



(a)



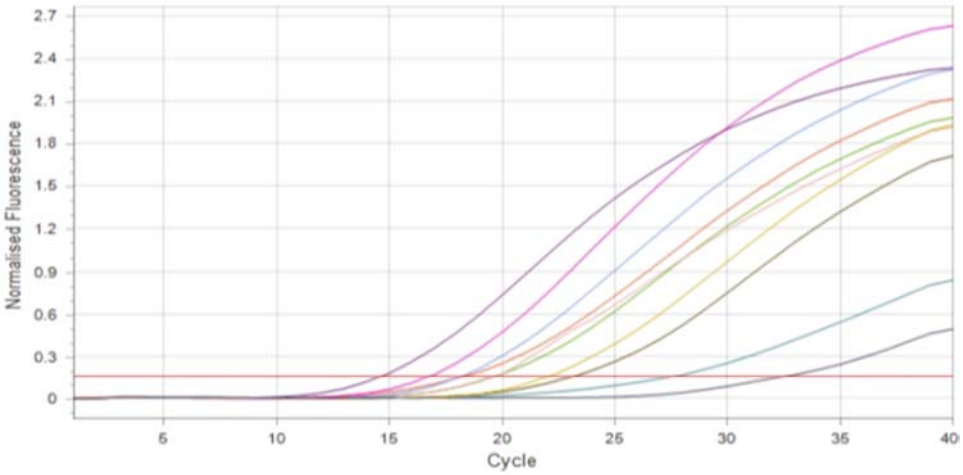
(b)

Şekil 4.14 (a) *E. coli* SIA1 suşu (1349 bp) 16SrRNA Lineer gen grafiği (b) *K. Pneumoniae* SIA1 suşu (1402 bp) 16SrRNA Lineer gen grafiği

4.6 Gerçek Zamanlı PCR Yoluyla E. C*oli* ve K. *Pneumoniaea*'daki Genlerin (fimH ve mrkD) Moleküler Belirlemesi

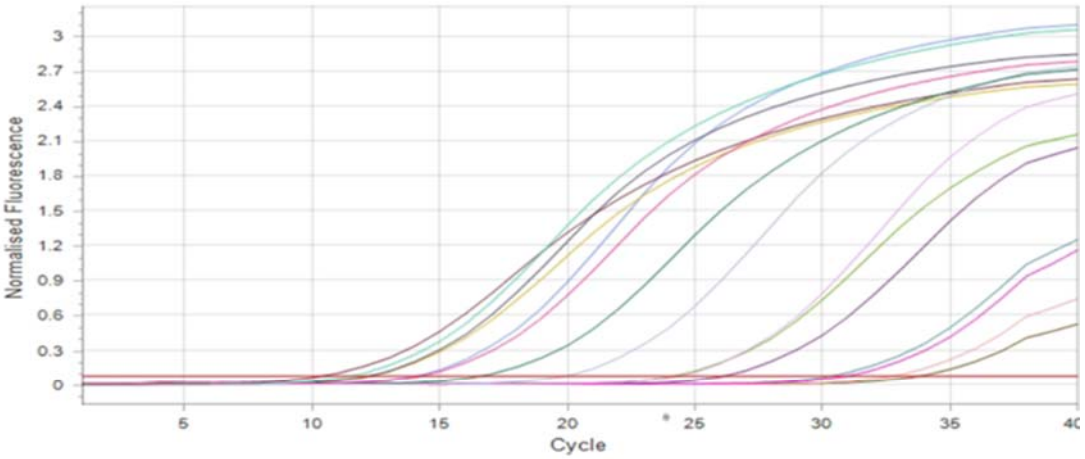
Biyofilm oluşumu ile mevcut çalışmanın izole edilmiş suşları arasında mrkD ve fimH genlerinin varlığı arasındaki ilişkiyi incelemek için (Ibraheem and Mohammad 2019, Rashmi *et al*. 2019) iki genin (fimH ve mrkD) moleküler yöntemlerle analiz edilmesi önerilmiştir.

Ardından, gerçek zamanlı PCR ile (16 izolat – sekiz *E. coli* ve sekiz *K. pneumoniae* izolatı) ve sonuçlar Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da belirtilmiş (mrkD type3 İleri ve mrkD type3 Geri) primerleri sırasıyla fimH geni ve mrkD geninin tespiti için annealing sıcaklığı 58^0C sıcaklığı ve 62^0C olan primerleri içeren (fimH tip1 İleri ve fimH tip1 Geri) dört spesifik primerin DNA amplifikasyonu ile gen saptama işlemi yapılmıştır.



Well	Colour	Sample Name	Cq	Efficiency
1		E1	14.63	0.62
2		E2	19.67	0.51
3		E3	18.33	0.41
4		E4	27.66	0.25
5		E5	23.18	0.43
6		E6	19.71	0.54
7		E7	18.19	0.62
8		E8	16.79	0.63
9		K1	-	-
10		K2	22.09	0.57
11		K3	32.59	0.27
12		K4	-	-
13		K5	-	-
14		K6	-	-
15		K7	-	-
16		K8	-	-
17		NC	-	-

Şekil 4.15 MicPCR versiyon 2.10.0 tarafından yaratılan 40 döngü sonrasında ölçülen *E. coli* ve *K. pneumonia* için (fimH) geninin gerçek zamanlı bir PCR yükseltme eğrisinin eşik seviyesi ve Cq değeri.



Well	Colour	Sample Name	Cq	Efficiency
1		E1	26.16	0.87
2		E2	24.20	0.85
3		E3	-	-
4		E4	30.36	0.79
5		E5	33.82	0.71
6		E6	32.80	0.81
7		E7	14.09	0.88
8		E8	31.02	0.73
9		K1	10.41	0.71
10		K2	12.27	0.85
11		K3	12.22	0.89
12		K4	14.26	0.80
13		K5	11.52	0.85
14		K6	19.98	0.84
15		K7	16.61	0.78
16		K8	24.34	0.76
17		NC	-	-

Şekil 4.16 MicPCR versiyon 2.10.0 tarafından yaratılan 40 döngü sonrasında ölçülen *E. coli* ve *K. pneumonia* için (mrkD) geninin gerçek zamanlı bir PCR yükseltme eğrisinin eşik seviyesi ve Cq değeri.

Cq değeri, numunenin reaksiyon eğrisinin eşik çizgisiyle kesiştiği PCR döngü sayısıdır. Bu nedenle Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'dan elde edilen (fimH ve mrkD) genlerinin Cq değerleri Çizelge 4.8 ile daha fazla açıklığa kavuşturulmuştur.

Çizelge 4.8 Mevcut çalışmanın 16 izolatından micPCR versiyon 2.10.0 vasıtasıyla yaratılan (fimH ve mrkD) genlerinin Cq değerlerinin analizi.

Kuyular	**micPCR Cq değeri**	**fimH Cq dğeri**	**Kuyular**	**micPCR Cq değeri**	**mrkD Cq dğeri**
E1 *E. coli* SIA1	14,63	Çok Yüksek	K1 *K.pneumoniae* SIA1	10,41	Çok Yüksek
E8	16,79	Yüksek	K5	11,52	Çok Yüksek
E3	18,33	Yüksek	K3	12,22	Çok Yüksek
E7	18,19	Yüksek	K2	12,27	Çok Yüksek
E2	19,67	Orta	K4	14,26	Çok Yüksek
E6	19,71	Orta	K7	16,61	Yüksek
E5	23,18	Düşük	K6	19,98	Orta
E4	27,66	Düşük	K8	24,34	
K2	22,09	Düşük	E7	14,09	Çok Yüksek
K3	32,59	Çok düşük	E2	24,20	Düşük
K1	0	--------	E1	26,16	Düşük
K4	0	-------	E4	30,36	Çok düşük
K5	0	----------	E8	31,02	Çok düşük
K6	0	----------	E6	32,80	Çok düşük
K7	0	----------	E5	33,82	Çok düşük
K8	0	-----	E3	0	-----

Cq değerlerinin amplifiye örnekte bulunan hedef nükleik asit miktarı ile ters olduğu iyi bilinmektedir. Bu nedenle, yukarıdaki çizelgedan açıkça fark edilebilir ki, *E. coli* suşu SIA1 daha yüksek miktarda fimH geni, ardından diğer yedi suşun yanı sıra *K. pneumoniae* suşu SIA1 mrkD geninin daha da yüksek Cq değeri sergilemiştir. Diğer suşlar farklı Cq değerleri gösterirken *E. coli* E7 suşu, çok güçlü bir biyofilm oluşturucu suşu temsil eden hem fimH (18,19 Cq değeri) hem de mrkD genlerine (14,09 Cq değeri) sahiptir.

5 SONUÇ VE TARTIŞMA

İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE), insanlarda en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlar olup önemli bir morbidite nedenidir. Genel olarak, kadın üretrası daha kısa olduğundan idrar yolu enfeksiyonu geçirme olasılığı kadınlarda erkeklere göre daha fazladır (Magliano *et al.* 2012). İdrar Yolu Enfeksiyona (İYE) neden olan çok sayıda bakteriler (gram negatif ve gram pozitif) olmasına rağmen infiksiyonların % 95'inden fazlasından *E. coli* başlıca sorumlu organizmalardır (Bonadio *et al*. 2001). İYE neden olan diğer mikroorganizmalar arasında Enterobacteriaceae familyası üyeleri (örenğin *Klebsiella, Proteus ve Pseudomonas* türleri), Enterococcus türleri, streptokoklar ve stafilokoklar bulunur (Mahato *et al.* 2018).

Bu nedenle, bu çalışma, kadınlarda farklı yaşlarda tekrarlayan İYE'ye neden olan en yaygın üropatojenik bakterileri saptamak ve bu patojenlerin antibiyotik direnç paternini belirlemek için yapılmıştır.

Hasta yaşları 15 ile 65 arasında değişmektedir. Örneklerin (makroskopik ve mikroskobik inceleme sonuçları) Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. 96 örnekte (%77,4) idrar kültürü pozitif saptanmıştır. Bu sonuçlar alt idrar yolları enfeksiyonlarının varlığını göstermektedir. İdrar tahlilinde değerlendirilen parametrelerden biri de idrarda polimorf nüveli lökositlerin varlığı piyüriyi tanlamaktadır. Ayrıca idrar yollarında inflamatuar yanıtını göstermektedir (Mohsen *et al.* 2012).

Piyüri, her zaman idrar yolu enfeksiyonu (İYE) varlığını göstermemektedir. Örneğin kronik böbrek hastalığında oldukça yaygındır (Wise and Schlegel 2020, Kwon *et al*. 2020). Piyüri ayrıca, akut ateşli hastalık, genitoüriner sistemin yapısal anormallikleri veya interstisyel nefrit gibi çeşitli hastalıklarda görünmektedir (Dieter 2000). Çalışmaya dahil edilenlerin yaşlarına göre enfeksiyon insidansı analiz edilmiş olup ve sonuçlar Çizelge 4.2 görüldüğü gibidir.

Belirgin bakterileri 96/124 (% 77,4) oranında gözlenmiştir. Bakteriyel İYE prevalansı, Çizelge 4.2'de gösterildiği gibi en düşük oran % 6,25 (6\96) insidansı ile (45–55) yaş grubunun gözlenirken, % 34,3 (33\96) insidans oranıyla (15–35) yaş grubunda en yüksek olarak saptandı.

Bu sonuçlar, (Foxman 2002) tarafından yapılan çalışma ile elde edilen daha genç kadınlar arasında artan İYE insidansının artan cinsel aktivite, hamilelik ve doğuma bağlı sonuçlarla uyumlu bulmuştur. Ek olarak, Kerkük'te (Salwa 2018, Fadhl *et al.* 2020), Bağdat'ta (Ashwak 2020) Doğu Nepal'de (Sanjay *et al.* 2018) ile Hindistan'da (Priyadharsini *et al.* 2014) tarafından kadınlarda üriner sistem İYE ile ilgili olarak yapılan diğer araştırmalarda hastaların yaş grubu ile yılda kişi (kadın) başına (0,5 ila 0,7) enfeksiyon aralığı kaydeden enfeksiyon insidans oranları arasında güçlü bir ilişkinin mevcut olduğu beyan edilmiştir.

İdrar numunelerdeki patojenik bakteri tipini belirlemek için kültürleri yapıldı. Alınan idrar örneklerinin steril ortamda (MacConkey ve kanlı agarlara) ekimi yapıldı. Cheesbrough 1984, tarafından belirtilen prosedüre göre 37ºC'de 18–24 saat inkübe edilmiştir ve saf koloniler, koloni morfolojisi özelliklerini (şekil, boyut, yüzey dokusu, kenar ve yükseklik, renk ve opaklık) gözlemlemek için makroskopik olarak incelenmiştir (Şekil 4.1).

Çizelge 4.4 Bizim yaptığımız çalışma ile ıraktaki diğer şehirlerde yapılan çalışmalar arasında izola edilen izolatların yüzdelerinde hafif oynamalar görülmektedir, örneğin (AL-Naimi 2014) yılında kerkük şehrinde *E.coli* izolatı %34 bulunurken, (Aljebory and Mohammad 2019) yılında %35 bulunmuş. (Mohammadi *et al.* 2015) *K.pneumoniae* yüzdesi %30 bulmuştur. Ayrıca Irak Diyala şehrinde bir çalışmada E.*coli* oranı %37,87 bulunmuşken, Nabbugodi nin 2013 yılında %40, (Rasheed Husein *et al.* 2017) Kuzey Irak bölgesi, Duhok şehrinde %74,4 bulunmuştur.

Türkiye'de ve tüm dunyada komplike olmayan İYE nın % 90'ında ve komplike İYE nın % 78'inde etkenin *E. coli* olduğu bilinmektedir (Arslan *et al.* 2005). Pakistan'da (Hassan *et al.* 2011) %80 ve Mısır'da (Helmy and Wasfi 2014) %71,32 *E. coli'dir*. idrar

yolu enfeksiyonuna neden olan yüksek oranda *E.coli* nin nedeni bu bakterinin insan gastrointestinal sisteminde normal flora olarak çok sayıda bulunmasından kaynaklanabilmektedir (Matsui *et al*. 2020). Bir diğer neden *E.coli* bakterisinin ürettiği hemolizin enzimidir ve enfeksiyon olaylarında kendisine yardımcı olan biyofilmi tabakası oluşturma yeteneği gibi birçok faktöre sahiptirler.

Klebsiella pneumoniae bakterisi de idrar yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadıri. Fakat çalışmada ikinci sırada yer almaktadır (%18,5). Irak'taki Al-Necef şehrinde yapılan bir çalışmada *K. pneumoniae*'nin % 27,8 oraninda bulunmuştur ve bizim çalışmamız ile uyumlu olduğu görülmüştür (Aljebory and Mohammad 2019, Mohammad 2019).

Yıllar boyunca çeşitli mikroorganizmaların değişik biyofilm üretim yolları geliştirilmiş olup İYE'lerden izole edilen her koliform bakterinin biyofilm oluşturma kapasitesi hem kalitatif hem de kantitatif testler kullanılarak değerlendirilmiştir (Hassan *et al.* 2011, Yadav and Prakash 2017).

Biyofilm özellikle geçici veya kalıcı implant infiksyonlarının tanı ve tedavisinde hayati önem taşımaktadır (Ch'ng *et al.* 2019). Öncelikle biyofilm gelişiminin antibiyotik direncini artırmaktadır.

Biyofilm üretimi, bakteri hücrelerini antimikrobiyallere karşı dirençli hale getiren, immünolojik efektör sistemleri barındıran, patojenlerin daha kolay kolonize olmalarına ve zorlu koşullarda canlı kalmalarına izin veren koruyucu bir gelişme modudur. Cihazla ilgili oluşan enfeksiyonlar, yabancı cisim olmadan kalıcı enfeksiyonlar ve tıbbi cihaz arızası, biyofilm hastalığının örnekleridir (Del Pozo 2018).

Çizelge 4.6 incelendiğinde, çoğu bakteri izolatının, özellikle Ciprofloxacin ve Trimetoprim'e antibiyotiklerine karşı oldukça dirençli olduğu, Gentamisin, Amikasin ve Meropenem antibiyotiklerine ise çoğu izolata karşı güclü antibakteriyel etkiyi sağladığını göstermiştir.

Elde edilen sonuçlar, *E. coli* ve *klebsiella pneumoniae* izolatlarında bulunan bir Tetrasiklin direnci modelinin oldukça yüksek olduğunu gösteren (Islam *et al*. 2012) sonuçlarla uyumludur. Diğer yandan B-laktam-laktamaz inhibitörlerinin kombinasyonu iyi etkinlik göstermiştir. Amikasin, laktam olmayan antibiyotikler arasında bu GSBL üreticilerine karşı en yüksek duyarlılığa sahiptir. Benzer bulgular, *E.coli ve K. pneumonia*'nın neden olduğu ciddi enfeksiyonları olan bireylerde de GSBL üretmektedir. Islam *et al*. 2012, Abigail *et al.* 1995 tarafından yürütülen benzer bir çalışmada, amikasin ve imipenem'e % 100 duyarlılık göstermiştir.

Buna uygun olarak, izole edilmiş iki suş, 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' ve (1492R) 5'`-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3` sekansı ile 60C (27F) annealing sıcaklığının iki evrensel primeri kullanılarak 16SrRNA gen sekansının (1500 bp) ürün boyutunda iki amplikon göstermiştir. Aynı sonuçlar, klozetlerden izole edilen E. vulneris'in tanımlanması için aynı protokolü kullanarak Tawfeeq *et al*. 2020 tarafından elde edilmiştir.

Sonuç olarak, iki suş, Çizelge 4.7 ve Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te gösterildiği gibi, sırasıyla *E. coli* izolatı için MZ647704 ve *Klebsiella pneumoniae* izolatı için MZ647716 erişim numarası altında NCBI'ye kaydedilmiştir.

Mevcut çalışmada, en yaygın biyofilm oluşturan ve biyofilm oluşturmayan koliformlar, daha önce belirtilen Mikrotiter plaka yöntemi, Kongo Kırmızı agar (CRA) ve tüp yöntemi teknikleri ile tespit edilen sağlam biyofilmler üreten (*E. coli* ve *K. pneumoniae*) suşlarıydı. Bununla birlikte, çeşitli genlerin biyofilm oluşumuna ve üropatojenin epitel hücrelerine yapışmasına katkıda bulunduğu bulunmuştur (Mishel and Stephenson 2012).

Çizelge 4.8 açıkça fark edilebilir ki, *E. coli* suşu SIA1 daha yüksek miktarda fimH geni, ardından diğer yedi suşun yanı sıra *K. pneumoniae* suşu SIA1 mrkD geninin daha da yüksek Cq değeri sergilemiştir. Diğer suşlar farklı Cq değerleri gösterirken E. *coli* E7 suşu, çok güçlü bir biyofilm oluşturucu suşu temsil eden hem fimH (18,19 Cq değeri) hem de mrkD genlerine (14,09 Cq değeri) sahiptir.

Biyofilmler, antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı azalttığı için büyük bir tıbbi öneme sahiptirler. Bu nedenle, birçok araştırmacı, üropatojenlerde fimH ve mrkD genlerinin oluşumunu geniş bir şekilde araştırmıştır. Yerel olarak, Irak Erbil şehrinde *E.coli* izolatlarının (% 93) fimH geni için pozitif olduğunu bulmuştur (Jarjees 2014). Bir diğer çalışma İran da hastaneye yatırılan ve hastaneye yatırılmayan bireylerden izole edilen *E. coli* suşlarında fimH geninin varlığı (% 92,8) bulunmuş ve karakterize edilmiştir (Hojati *et al.* 2015). Bu, fimH geninin *E. coli* suşlarının çoğunda mevcut olduğu gösterilmiş ve bizim bulgularımızla neredeyse aynı bulunmuştur (Tarchouna *et al.* 2013). Portekiz'de yakın zamanda yapılan bir araştırma, ekstraintestinal *E. coli* biyofilm üretiminin tip 1 fimbria gibi çeşitli adezinlerin ekspresyonu ile bağlantılı olabileceğini ve cam üzerinde biyofilm oluşumu ile fimH geninin varlığı arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir (Cergole-Novella *et al*. 2015, Moreira *et al.* 2006).

Belirgin bir kapsül, tip 3 fimbria (mrkD geni) ve fim H fimbria, *K. pneumoniae*'nin bilinen virülans faktörleri arasındadır (Moreira *et al.* 2006). Tip fimH, işlevsel ve fiziksel olarak *E. coli* fimH'ye benzer olup *K. pneumoniae* İYE'de önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Podschun and Ullmann 1998, Rosen *et al.* 2008). Ayrıca, bu çalışmadaki (*E. coli* suşu E7) gibi birçok *E. coli* suşunda fimH geninin mrkD geni ile birlikte olduğu bulunmuştur. Çünkü bu genlerin tümü yüzeylerde bakteriyel adezyon, kolonizasyon ve biyofilm oluşumuna yardımcı olmuştur (Behzadi 2018, Khonsari *et al*. 2021).

K. pneumoniae'de bulunan fimH ve mrkD genlerinin, hücre dışı matrikse bağlanmayı kolaylaştıran ve biyofilm gelişimini destekleyen tip 1 ve tip 3 fimbria adhezin faktörlerini kodladığı bildirilmiştir (Fu *et al*. 2018). Popülasyon düzeyinde, fimH, çeşitli kökenlere sahip 65 *K. pneumoniae* izolatından oluşan bir grupta analiz edilmiştir. fimH lokusu, izolatların neredeyse % 90'ından yükseltilebilir. Bu da *K. pneumoniae*'de fimH'nin her yerde bulunan doğasını göstermektedir (Stahlhut *et al.* 2009). Birçok çalışma, tip 3 fimbriaların (mrkD geni) *K. pneumoniae* biyofilm oluşumunda önemli olduğunu ortaya koymuştur (Bellifa *et al.* 2020). Mevcut araştırmadaki MRD *K. pneumoniae* izolatlarının çoğu, hem fimH-1 hem de mrkD virülans genlerine sahiptir. Birçok klinik *K. pneumoniae* izolatının rutin olarak hem tip 1 hem de tip 3 fimbrial

adezinler sergilediğini gösteren araştırmalara rağmen (Wasfi *et al.* 2016), *K. pneumoniae* enfeksiyonuna ilerlemedeki en önemli adımlardan biri, yüzeylere yapışma ve kalıcı kolonizasyon gösterme yeteneği ile ilgilidir. MrkD, özellikle hücre dışı matrise bağlanmaya aracılık etmektedir. *K. pneumoniae*'nin hasarlı dokuya yapışmasını kolaylaştırır ve kalıcı cihazları kaplamaktadır (Paczosa and Mecsas 2016).

İdrar yolu enfeksiyonları tüm dünyada özellikle kadınlarda en sık görülen ve sürekli takip gerektiren enfeksiyonlardan biridir. Kadınlar, idrar yolu enfeksiyonu belirtileri ortaya çıktığında hemen ürüroloji veya kadın doğum uzmanına gitmeli ve antibiyotik direncini yaymamak için doktora danışmadan antibiyotik kullanmaktan kaçmalıdır. İzole edilen *E. coli* E7 suşu, özellikle moleküler karakterizasyon ile birlikte antibiyotik direnç paternlerini içeren araştırmalara tabi tutulmalıdır. Biyofilm tedavilerinde Bakteriyofajlarla ilgili yeni çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

Abad, E. D., Khameneh, A. and Vahedi, L. 2019. Identification phenotypic and genotypic characterization of biofilm formation in Escherichia coli isolated from urinary tract infections and their antibiotics resistance. BMC research notes, 12(1): 1-7.

Abdallah, N. M. A., Elsayed, S. B., Mostafa, M. M. Y., & El-gohary, G. M. 2011. Biofilm forming bacteria isolated from urinary tract infection, relation to catheterization and susceptibility to antibiotics. International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research, 2(10): 172-178.

Adler, A., Elenbogen, M., Carmeli, Y., Baraniak, A., Izdebski, R., Fiett, J., & Lerman, Y. 2013. A binational cohort study of intestinal colonization with extended-spectrum β-lactamase-producing Proteus mirabilis in patients admitted to rehabilitation centres. Clinical Microbiology and Infection, 19(2): E51-E58.

Aguiniga, L. M., Yaggie, R. E., Schaeffer, A. J., & Klumpp, D. J. 2016. Lipopolysaccharide domains modulate urovirulence. Infection and immunity, 84(11): 3131-3140.

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

Alamuri, P., Eaton, K. A., Himpsl, S. D., Smith, S. N., & Mobley, H. L. 2009. Vaccination with proteus toxic agglutinin, a hemolysin-independent cytotoxin in vivo, protects against Proteus mirabilis urinary tract infection. Infection and immunity, 77(2): 632-641.

Ali, H. A. and Noor, N. K. 2017. DetectionOf genes Responsible for BiofilmsFormedby Klebsiella pneumoniaeandEsherichia coliand their effect on innate immunity, AJPS, Vol. 17, No.1: 192- 203.

Alipour, M., Hajiesmaili, R., Talebjannat, M., & Yahyapour, Y. 2014. Identification and antimicrobial resistance of Enterococcus spp. isolated from the river and coastal waters in northern Iran. The Scientific World Journal, 2014.

Aljebory, I. S., & Mohammad, K. A. 2019. Molecular Detection of Some Virulence Genes of Escherichia coli Isolated from UTI Patients in Kirkuk City, Iraq. Journal of Global Pharma Technology, 11(03): 349–355.

Allam, N. 2017. Correlation between Biofilm Production and Bacterial UrinaryTract Infections: New Therapeutic Approach. Egyptian Journal of Microbiology, 52(1): 39-48.

Al-Naimi, Muhammad Khudair Abbas. 2014. Bacteriological study of some genera of negative bacteria. Gram-resistant beta-lactam stains isolated from urinary tract infections in the province of Diyala. Master's Thesis, College of Education for Pure Sciences, University of Diyala.

Alonto, A. 2007. Urinary Tract Infections. In: Textbook of Diagnostic Microbiology. C. L. Mahon, D. Lehman & G. Manuselis (eds.), pp. 1010-1029. Sauders, 1-4160-2581-2, St. Louis, MO, USA.

Anand, S. K., Shadma, F., Joshi, C. G., & Purohit, J. H. 2006. Molecular characterization of Escherichia coli using PCR single strand conformation polymorphism analysis of 16S rRNA gene. Indian Journal of Poultry Science, 41(1): 1-5.

Ando, E., Monden, K., Mitsuhata, R., Kariyama, R., & Kumon, H. 2004. Biofilm formation among methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from patients with urinary tract infection. Acta Medica Okayama, 58(4): 207-214.

Arciola, C. R., Baldassarri, L., & Montanaro, L. 2001. Presence of icaA and icaD genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. Journal of clinical microbiology, 39(6): 2151-2156.

Arslan, H., Azap, Ö. K., Ergönül, Ö., Timurkaynak, F., Aydin, K., Bakir, M., Balaban, N., Baykam, N., Çağir, U., Çaylan, R., Elaldi, N., Erdoğan, H., Fincanci, M., Hasimoğlu, R., Izat, A., Karabay, O., Karaman, S., Mutlu, S., Özakim, C., … Willke-Topçu, A. 2005. Risk factors for ciprofloxacin resistance among Escherichia coli strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 56(5): 914–918. https://doi.org/10.1093/jac/dki344

Arti, K., Ananthanarayan & Paniker's Textbook of Microbiology. 9thed. Chennai: Universities PressPvt Ltd, 2013.

Ashwak, Jasım Kzar Shammarı, 2020. Isolation, Identification, and characterization of Microbial that caused Urinary Tract Infection in pregnant women/Iraq. International Journal of Pharmaceutical Research, 12:(1).

Bailey, W. R., & Scott, E, G., 1974. Diagnostic microbiology, 4th ed. Mosby, St. Louis, MO.

Bandeira, M., Carvalho, P. A., Duarte, A., & Jordao, L. 2014. Exploring dangerous connections between Klebsiella pneumoniae biofilms and healthcare-associated infections. Pathogens, 3(3): 720-731.

BD, BD logo and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection. © 2003 Becton, Dickinson and Company.

Behzadi, P. 2018. Uropathogenic Escherichia coli and fimbrial adhesins virulome. Urinary Tract Infection: The Result of the Strength of the Pathogen, or the Weakness of the Host. Croatia: InTechOpen, 65–83.

Belas, R. 2014. Biofilms, flagella, and mechanosensing of surfaces by bacteria. Trends in microbiology, 22(9): 517-527.

Bellifa, S., Hassaine, H., Terki, I. K., M'hamedi, I., Lachachi, M., & Forestier, C. 2020. Detection of Biofilm Formation of Klebsiella Pneumoniae Isolated from Medical Devices at the University Hospital of Tlemcen, Algeria. Medical Technologies Journal, 4(1): 518–519.

Benson H. J. 2002 Microbiology Application: Laboratory Manual in General Microbiology. 8th Ed. USA, Mc Graw-Hill; 2002.

Besharova, O., Suchanek, V. M., Hartmann, R., Drescher, K., & Sourjik, V. 2016. Diversification of gene expression during formation of static submerged biofilms by Escherichia coli. Frontiers in microbiology, 7, 1568.

Bettey, B., Forbes, A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. 2007. Diagnostic microbiology. St Louis: Mosby.

Bhowmik, G. 2011. Ana Techniqs in Biotechnology. Tata McGraw-Hill Education.

Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. 2012. Role of uropathogenic Escherichia coli virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. International journal of nephrology, 2012.

Bjarnsholt, T. 2013. The role of bacterial biofilms in chronic infections. Apmis, 121: 1-58.

Bonadio, M., M. Meini, P. Spetaleri and C. Gilgi, 2001. Current microbiological and clinical aspects of urinary tract infections. Eur. J. Urol., 40: 439-445. DOI: 10.1159/000049813

Bonadio, M., Meini, M., Spitaleri, P., & Gigli, C. 2000. Current microbiological and clinical aspects of urinary tract infections. European urology, 40(4): 439-445.

Brinton Jr, C. C. 1965. The structure, function, synthesis and genetic control of bacterial pili and a molecular model for DNA and RNA transport in gram negative bacteria. Transactions of the New York Academy of Sciences, 27(8 Series II): 1003-1054.

Brisse, S., Fevre, C., Passet, V., Issenhuth-Jeanjean, S., Tournebize, R., Diancourt, L., & Grimont, P. 2009. Virulent clones of Klebsiella pneumoniae: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. PloS one, 4(3): e4982.

Brown, D. F., Edwards, D. I., Hawkey, P. M., Morrison, D., Ridgway, G. L., Towner, K. J., & Wren, M. W. 2005. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Journal of antimicrobial chemotherapy, 56(6): 1000-1018.

CDC, 2011 Vital and Health Statistics. Ambulatory Medical Care Utilization Estimates for 2007. Series 13, Number 159. Hyattsville, MD, 2011.

Cergole-Novella, M. C., Pignatari, A. C. C., & Guth, B. E. C. 2015. Adhesion, biofilm and genotypic characteristics of antimicrobial resistant Escherichia coli isolates. Brazilian Journal of Microbiology, 46: 167–171.

Cheesbrough, M. 1984. Medical Laboratory Manual for Tropical Countries, Vol. 2: Microbiology. Tropical Health Technology.

Cheryl-lynn, Y. O., Beatson, S. A., Totsika, M., Forestier, C., McEwan, A. G., & Schembri, M. A. 2010. Molecular analysis of type 3 fimbrial genes from Escherichia coli, Klebsiella and Citrobacter species. BMC microbiology, 10(1): 1-12.

Chung, P. Y. 2016. The emerging problems of Klebsiella pneumoniae infections: carbapenem resistance and biofilm formation. FEMS microbiology letters, 363(20): fnw219.

Claudia Vuotto, Longo, F., Balice, M. P., Donelli, G., & Varaldo, P. E. 2014. Antibiotic resistance related to biofilm formation in Klebsiella pneumoniae. Pathogens, 3(3): 743-758.

Clegg, S. and Murphy, C. N. 2016. Epidemiology and virulence of Klebsiella pneumoniae. Microbiology spectrum, 4(1): 4-1.

Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., Lappin-Scott, H. M. 1999 Microbial biofilms. In Annual Review of Microbiology, Vol. 49. Ornston, L.N., Ballows, A., and Greenberg, E.P. (eds). Palo Alto, CA: Annu Rev Inc, pp. 711–745

De Almeida, C. V., Taddei, A., & Amedei, A. 2018. The controversial role of Enterococcus faecalis in colorectal cancer. Therapeutic advances in gastroenterology, 11, 1756284818783606.

Del Pozo, J. L. 2018. Biofilm-related disease. Expert Review of Anti-Infective Therapy, 16(1): 51–65.

Desmarchelier, P. and Fegan, N. 2016. Pathogens in milk: Escherichia coli.

Dielubanza, E. J., & Schaeffer, A. J. 2011. Urinary tract infections in women. Medical clinics, 95(1): 27-41.

Dieter, R. S. 2000. Sterile pyuria: a differential diagnosis. Comprehensive therapy, 26(3): 150-152.

Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. 2000. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clinical microbiology reviews, 13(1): 16-34.

Echols, R. M., Tosiello, R. L., Haverstock, D. C., & Tice, A. D. 1999. Demographic, clinical, and treatment parameters influencing the outcome of acute cystitis. Clinical infectious diseases, 29(1): 113-119.

Eto, D. S., Jones, T. A., Sundsbak, J. L., & Mulvey, M. A. 2007. Integrin-mediated host cell invasion by type 1–piliated uropathogenic Escherichia coli. PLoS pathogens, 3(7): e100.

Evrard, B., Balestrino, D., Dosgilbert, A., Bouya-Gachancard, J. L., Charbonnel, N., Forestier, C., & Tridon, A. 2010. Roles of capsule and lipopolysaccharide O antigen in interactions of human monocyte-derived dendritic cells and Klebsiella pneumoniae. Infection and immunity, 78(1): 210-219.

Fadhl, A. S., Al-Gasha'a, A., Shayma, M., Al-Baker, A., Jamil, M., Obiad and Fadhil, A., 2020 . Prevalence of Urinary Tract Infections and Associated Risk Factors Among Patients Attending Medical City Hospital in Baghdad City, Iraq

Farhan, R. K. 2016. Pharmacological and molecular study of antimicrobial resistant microorganisms causing skin infections. Ph.D. thesis, University of Tikrit. 2016.

Finer, G., & Landau, D. 2004. Pathogenesis of urinary tract infections with normal female anatomy. The Lancet infectious diseases, 4(10): 631-635.

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

Foster, T. 1996. Staphylococcus. Medical Microbiology. 4th edition.

Fotadar, U., Zaveloff, P., & Terracio, L. 2005. Growth of Escherichia coli at elevated temperatures. Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms, 45(5): 403-404.

Foxman, B. 2002. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. The American journal of medicine, 113(1): 5-13.

Foxman, B. 2014. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. Infectious Disease Clinics, 28(1): 1-13.

Fu, L., Huang, M., Zhang, X., Yang, X., Liu, Y., Zhang, L., Zhang, Z., Wang, G., & Zhou, Y. 2018. Frequency of virulence factors in high biofilm formation blaKPC-2 producing Klebsiella pneumoniae strains from hospitals. Microbial Pathogenesis, 116: 168–172.

García-Solache, M., & Rice, L. B. 2019. The Enterococcus: a model of adaptability to its environment. Clinical microbiology reviews, 32(2): e00058-18.

Geerlings, S. E., Stolk, R. P., Camps, M. J., Netten, P. M., Hoekstra, J. B., Bouter, K. P., & Hoepelman, A. I. 2000. Asymptomatic bacteriuria may be considered a complication in women with diabetes. Diabetes Mellitus Women Asymptomatic Bacteriuria Utrecht Study Group. Diabetes care, 23(6): 744-749.

Gellatly, S. L., & Hancock, R. E. 2013. Pseudomonas aeruginosa: new insights into pathogenesis and host defenses. Pathogens and disease, 67(3): 159-173.

Gestel, G., Van, J., Vlamakis, H., & Kolter, R. (2015). Division of labor in biofilms: the ecology of cell differentiation. Microbiology spectrum, 3(2): 3-2.

Girón, J. A., Torres, A. G., Freer, E., & Kaper, J. B. 2002. The flagella of enteropathogenic Escherichia coli mediate adherence to epithelial cells. Molecular microbiology, 44(2): 361-379.

Goering, R. V., Shawar, R. M., Scangarella, N. E., O'Hara, F. P., Amrine-Madsen, H., West, J. M., & Twynholm, M. E. 2008. Molecular epidemiology of methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus isolates from global clinical trials. Journal of clinical microbiology, 46(9): 2842-2847.

Gomes, A. É. I., Pacheco, T., Santos, C. D. S. D., Pereira, J. A., Ribeiro, M. L., Darrieux, M., & Ferraz, L. F. C. 2021. Functional insights from KpfR, a new transcriptional regulator of fimbrial expression that is crucial for Klebsiella pneumoniae pathogenicity. Frontiers in microbiology, 11: 3347.

Grabe, M., Bjerklund-Johansen, T. E., Botto, H., Çek, M., Naber, K. G., Tenke, P., & Wagenlehner, F. 2015. Guidelines on urological infections. European association of urology, 182: 237-257.

Hahn, E., Wild, P., Hermanns, U., Sebbel, P., Glockshuber, R., Häner, M., & Müller, S. A. 2002. Exploring the 3D molecular architecture of Escherichia coli type 1 pili. Journal of molecular biology, 323(5): 845-857.

Hall, C. W., & Mah, T. F. 2017. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. FEMS microbiology reviews, 41(3): 276-301.

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

Hasan, T. H. 2020. Extended Spectrum Beta Lactamase E. Coli isolated from UTI Patients in Najaf Province, Iraq. International Journal of Pharmaceutical Research, 12(4).

Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A., & Iqbal, M. 2011. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. Brazilian Journal of Infectious Diseases, 15(4): 305–311.

Hassan, S., Jamal, S., & Kamal, M. 2011. Occurrence of multidrug resistant and ESBL producing E. coli causing urinary tract infections. J Basic Appl Sci, 7(S1): 39–43.

Helmy, M. M., & Wasfi, R. 2014. Phenotypic and molecular characterization of plasmid mediated AmpC β-lactamases among Escherichia coli, Klebsiella spp., and Proteus mirabilis isolated from urinary tract infections in Egyptian hospitals. BioMed Research International, 2014. https://doi.org/10.1155/2014/171548

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

Hojati, Z., Zamanzad, B., Hashemzadeh, M., Molaie, R., & Gholipour, A. 2015. Detection of fimh gene in uropathogenic escherichia coli strains isolated from patients with urinary tract infection. Jundishapur Journal of Microbiology, 8(2): 12–15. https://doi.org/10.5812/jjm.17520

Hooton, T. M. 2012. Uncomplicated urinary tract infection. New England Journal of Medicine, 366(11): 1028-1037.

Howery, K. E., Clemmer, K. M., Şimşek, E., Kim, M., & Rather, P. N. 2015. Regulation of the Min cell division inhibition complex by the Rcs phosphorelay in Proteus mirabilis. Journal of bacteriology, 197(15): 2499-2507.

Hufnagel, D. A., Depas, W. H., & Chapman, M. R. 2015. The biology of the Escherichia coli extracellular matrix. Microbiology spectrum, 3(3): 3-3.

Hung, C., Zhou, Y., Pinkner, J. S., Dodson, K. W., Crowley, J. R., Heuser, J., & Hultgren, S. J. 2013. Escherichia coli biofilms have an organized and complex extracellular matrix structure. MBio, 4(5): e00645-13.

Ibraheem A. S., and Mohammad, K. A. 2019. Molecular Detection of Some Virulence Genes of Escherichia coli Isolated from UTI Patients in Kirkuk City, Iraq. Journal of Global Pharma Technology, 11(03): 349-355.

Islam, M., Jhora, S., Yusuf, M., Sattar, A., Shahidullah, S., Rahman, N., Sharif, A., Ahsan, A., Wadud, A., & Chowdhury, M. (2012). Frequency and Antimicrobial Sensitivity Pattern of Extended Spectrum β-Lactamases Producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolated from urine at a Tertiary Care Hospital. Journal of Shaheed Suhrawardy Medical College, 4(1): 22–25. https://doi.org/10.3329/jssmc.v4i1.11999

Ito, R., Shindo, Y., Kobayashi, D., Ando, M., Jin, W., Wachino, J. I., & Arakawa, Y. 2015. Molecular epidemiological characteristics of Klebsiella pneumoniae associated with bacteremia among patients with pneumonia. Journal of clinical microbiology, 53(3): 879-886.

Jacobsen, S. M., Lane, M. C., Harro, J. M., Shirtliff, M. E., & Mobley, H. L. 2008. The high-affinity phosphate transporter Pst is a virulence factor for Proteus mirabilis during complicated urinary tract infection. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 52(2): 180-193.

Jamil, R. T., Foris, L. A., & Snowden, J. 2017. Proteus mirabilis infections.

Janda, J. M., & Abbott, S. L. 2006. The enterobacteria. American Society for Microbiology (ASM).

Jarjees, K. K. 2014. spa gene and AntibioGram Typing of Staphylococcus aureus isolated from different clinical sources in Erbil city. PhD. Thesis. College of Education-University of Salahaddin-Erbil-Iraq.

Jarvis, W. R., & Martone, W. J. 1992. Predominant pathogens in hospital infections. Journal of antimicrobial chemotherapy, 29(suppl_A): 19-24.

Jeremiah Johnson. G., Murphy, C. N., Sippy, J., Johnson, T. J., & Clegg, S. 2011. Type 3 fimbriae and biofilm formation are regulated by the transcriptional regulators MrkHI in Klebsiella pneumoniae. Journal of bacteriology, 193(14): 3453-3460.

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

Johnson, J. R., Jelacic, S., Schoening, L. M., Clabots, C., Shaikh, N., Mobley, H. L., & Tarr, P. I. 2005. The IrgA homologue adhesin Iha is an Escherichia coli virulence factor in murine urinary tract infection. Infection and immunity, 73(2): 965-971.

Johnson, T. R., Case, C. L., Cappuccino, J. G., & Sherman, N. 2013. Great Adventures In The Microbiology Laboratory. Microbiology, 22: 175-176.

Kaca, W., Arabski, M., Fudała, R., Holmström, E., Sjöholm, A., Weintraub, A., & Doroszkiewicz, W. 2009. Human complement activation by smooth and rough Proteus mirabilis lipopolysaccharides. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis, 57(5): 383-391.

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. 2004. Pathogenic escherichia coli. Nature reviews microbiology, 2(2): 123-140.

Karigoudar, R. M., Karigoudar, M. H., Wavare, S. M., & Mangalgi, S. S. 2019. Detection of biofilm among uropathogenic Escherichia coli and its correlation with antibiotic resistance pattern. Journal of laboratory physicians, 11(01): 017-022.

Kauffman, C. A., Vazquez, J. A., Sobel, J. D., Gallis, H. A., McKinsey, D. S., Karchmer, A. W., & National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group. 2000. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. Clinical Infectious Diseases, 30(1): 14-18.

Kavitha, J. R., & Devasena, T. 2013. Molecular and Bacteriological examination of cow milk in coliform mastitis. J. Pharmay and Biological Science, 6(2): 2319-7676.

Khatoon, Z., McTiernan, C. D., Suuronen, E. J., Mah, T. F., & Alarcon, E. I. 2018. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. Heliyon, 4(12): e01067.

Khonsari, M. S., Behzadi, P., & Foroohi, F. 2021. The prevalence of type 3 fimbriae in Uropathogenic Escherichia coli isolated from clinical urine samples. Meta Gene, 28(February), 100881. https://doi.org/10.1016/j.mgene.2021.100881

Kim, H. K., Falugi, F., Missiakas, D. M., & Schneewind, O. 2016. Peptidoglycan-linked protein A promotes T cell-dependent antibody expansion during Staphylococcus aureus infection. Proceedings of the National Academy of Sciences, 113(20): 5718-5723.

Klemm, P., Vejborg, R. M., & Hancock, V. 2010. Prevention of bacterial adhesion. Applied microbiology and biotechnology, 88(2): 451-459.

Kline, K. A., Fälker, S., Dahlberg, S., Normark, S., & Henriques-Normark, B. 2009. Bacterial adhesins in host-microbe interactions. Cell host & microbe, 5(6): 580-592.

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

Kristich, C. J., Rice, L. B., & Arias, C. A. 2014. Enterococcal infection—treatment and antibiotic resistance. Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection [Internet].

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

Kumar, M. S., & Das, A. P. 2016. Molecular identification of multi drug resistant bacteria from urinary tract infected urine samples. Microbial pathogenesis, 98: 37-44.

Kwon, Y. E., Oh, D. J., Kim, M. J., & Choi, H. M. 2020. Prevalence and clinical characteristics of asymptomatic pyuria in chronic kidney disease. Annals of laboratory medicine, 40(3): 238-244.

Lee, A. C., Quaiyum, M. A., Mullany, L. C., Mitra, D. K., Labrique, A., Ahmed, P., & Baqui, A. H. 2015. Screening and treatment of maternal genitourinary tract infections in early pregnancy to prevent preterm birth in rural Sylhet, Bangladesh: a cluster randomized trial. BMC pregnancy and childbirth, 15(1): 1-14.

Lewis, K. 2010. Persister cells. Annual review of microbiology, 64: 357-372.

Licitra, G. 2013. Etymologia: Staphylococcus. Emerging Infectious Diseases, 19(9): 1553.

Lin, W. H., Wang, M. C., Tseng, C. C., Ko, W. C., Wu, A. B., Zheng, P. X., & Wu, J. J. 2010. Clinical and microbiological characteristics of Klebsiella pneumoniae isolates causing community-acquired urinary tract infections. Infection, 38(6): 459-464.

Lin, Y. T., Jeng, Y. Y., Chen, T. L., & Fung, C. P. 2010. Bacteremic community-acquired pneumonia due to Klebsiella pneumoniae: clinical and microbiological characteristics in Taiwan, 2001-2008. BMC infectious diseases, 10(1): 1-7.

Litza, J. A. and Brill, J. R. 2010. Urinary tract infections,37(3): 491- 507.

Liu, G. Y., Essex, A., Buchanan, J. T., Datta, V., Hoffman, H. M., Bastian, J. F., ... & Nizet, V. 2005. Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. The Journal of experimental medicine, 202(2): 209-215.

MacFaddin, J. F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria.

Mack, D., Becker, P., Chatterjee, I., Dobinsky, S., Knobloch, J. K. M., Peters, G., & Herrmann, M. 2004. Mechanisms of biofilm formation in Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus: functional molecules, regulatory circuits, and adaptive responses. International Journal of Medical Microbiology, 294(2-3): 203-212.

Madersbacher, S., Thalhammer, F., & Marberger, M. 2000. Pathogenesis and management of recurrent urinary tract infection in women. Current opinion in urology, 10(1): 29-33.

Magliano, E., Grazioli, V., Deflorio, L., Leuci, A. I., Mattina, R., Romano, P., & Cocuzza, C. E. 2012. Gender and age-dependent etiology of community-acquired urinary tract infections. The scientific world journal, 2012.

Mahato, S., Mahato, A., & Yadav, J. 2018. Prevalence and identification of uropathogens in eastern Nepal and understanding their antibiogram due to multidrug resistance and Esbl. Asian Pac J Microbiol Res, 2(1): 09-17.

Mandell, L. A., Wunderink, R. G., Anzueto, A., Bartlett, J. G., Campbell, G. D., Dean, N. C., & Whitney, C. G. 2007. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. Clinical infectious diseases, 44(Supplement_2): S27-S72.

Mann, E. E., & Wozniak, D. J. 2012. Pseudomonas biofilm matrix composition and niche biology. FEMS microbiology reviews, 36(4): 893-916.

Maria, K., Hadjifrangiskou, M., & Hultgren, S. J. 2013. Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 3(4): a010306.

Maria, E. T., Giorgio, G. and Massimo, E. M. 2017. UroPathogenic Escherichia coli (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. Frontiers in Microbiology 8: 1566.DOI:10.3389/fmicb.2017.01566

Maripandi, A., Ali, A., Al-Salamah, A. and Amuthan, M 2010. "Prevalence and antibiotics susceptibility of uropathogens in patients from a rural environment, Tamilnadu." Am J Infect Dis 6.2: 29-33.

Mathur, S., Sabbuba, N. A., Suller, M. T. E., Stickler, D. J., & Feneley, R. C. L. 2005. Genotyping of urinary and fecal Proteus mirabilis isolates from individuals with long-term urinary catheters. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 24(9): 643-644.

Mathur, T., Singhal, S., Khan, S., Upadhyay, D. J., Fatma, T., & Rattan, A. 2006. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. Indian journal of medical microbiology, 24(1): 25-29.

Matsui, Y., Hu, Y., Rubin, J., de Assis, R. S., Suh, J., & Riley, L. W. 2020. Multilocus sequence typing of Escherichia coli isolates from urinary tract infection patients and from fecal samples of healthy subjects in a college community. MicrobiologyOpen, 9(6): 1225–1233. https://doi.org/10.1002/mbo3.1032

Mazzariol, A., Bazaj, A., & Cornaglia, G. 2017. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. Journal of Chemotherapy, 29(sup1): 2-9.

Melzer, M., & Welch, C. 2013. Outcomes in UK patients with hospital-acquired bacteraemia and the risk of catheter-associated urinary tract infections. Postgraduate medical journal, 89(1052): 329-334.

Meyer, J. M., Geoffroy, V. A., Baida, N., Gardan, L., Izard, D., Lemanceau, P., & Palleroni, N. J. 2002. Siderophore typing, a powerful tool for the identification of fluorescent and nonfluorescent pseudomonads. Applied and Environmental Microbiology, 68(6): 2745-2753.

Minardi, D., d'Anzeo, G., Cantoro, D., Conti, A., & Muzzonigro, G. 2011. Urinary tract infections in women: etiology and treatment options. International journal of general medicine, 4, 333.

Mishel, M. and Stephenson, O. 2012. Contribution of biofilm genes to adherence of Escherichia coli O157: H7 to epithelial cells. Iowa State University.

Mohammadi, F., Ghafourian, S., Mohebi, R., Taherikalani, M., Pakzad, I., Valadbeigi, H., & Sadeghifard, N. 2015. Enterococcus faecalis as multidrug resistance strains in clinical isolates in Imam Reza Hospital in Kermanshah, Iran. British journal of biomedical science, 72(4): 182-184.

Mohsen Chenari, Gooran, S., Zarghami, A., & Fazeli, F. 2012. Assessment of Urine Analysis Diagnostic Role: A Cross-Sectional Study in South Eastern of Iran.

Moreira, C. G., Palmer, K., Whiteley, M., Sircili, M. P., Trabulsi, L. R., Castro, A. F. P., & Sperandio, V. 2006. Bundle-forming pili and EspA are involved in biofilm formation by enteropathogenic Escherichia coli. Journal of Bacteriology, 188(11): 3952–3961.

Morgan, S. D., Rigby, D., & Stickler, D. J. 2009. A study of the structure of the crystalline bacterial biofilms that can encrust and block silver Foley catheters. Urological research, 37(2): 89-93.

Naber, K. G., Schito, G., Botto, H., Palou, J., & Mazzei, T. 2008. Surveillance study in Europe and Brazil on clinical aspects and Antimicrobial Resistance Epidemiology in Females with Cystitis (ARESC): implications for empiric therapy. European urology, 54(5): 1164-1178.

Nagamatsu, K., Hannan, T. J., Guest, R. L., Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M., Binkley, J., & Hultgren, S. J. 2015. Dysregulation of Escherichia coli α-hemolysin expression alters the course of acute and persistent urinary tract infection. Proceedings of the National Academy of Sciences, 112(8): E871-E880.

Nakamura, Y., Yamamoto, N., Kino, Y., Yamamoto, N., Kamei, S., Mori, H., ... & Nakashima, N. 2016. Establishment of a multi-species biofilm model and metatranscriptomic analysis of biofilm and planktonic cell communities. Applied microbiology and biotechnology, 100(16): 7263-7279.

Nesta, B., Spraggon, G., Alteri, C., Gomes Moriel, D., Rosini, R., Veggi, D., & Soriani, M. 2012. FdeC, a novel broadly conserved Escherichia coli adhesin eliciting protection against urinary tract infections. MBio, 3(2): e00010-12.

Nickel, J. C., Ruseska, I., Wright, J. B., & Costerton, J. W. 1985. Tobramycin resistance of Pseudomonas aeruginosa cells growing as a biofilm on urinary catheter material. Antimicrobial agents and chemotherapy, 27(4): 619-624.

Nicolle, L. E. 1997. Asymptomatic bacteriuria in the elderly. Infectious disease clinics of North America, 11(3): 647-662.

Nicolle, L. E. 2008. Uncomplicated urinary tract infection in adults including uncomplicated pyelonephritis. Urologic Clinics of North America, 35(1): 1-12.

Nielubowicz, G. R., & Mobley, H. L. 2010. Host–pathogen interactions in urinary tract infection. Nature Reviews Urology, 7(8): 430-441.

Nygaard, I. E., & Johnson, J. M. 1996. Urinary tract infections in elderly women. American family physician, 53(1): 175-182.

O'Brien, V. P., Hannan, T. J., Nielsen, H. V., & Hultgren, S. J. 2016. Drug and vaccine development for the treatment and prevention of urinary tract infections. Microbiology spectrum, 4(1): 4-1.

O'Driscoll, T., & Crank, C. W. 2015. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. Infection and drug resistance, 8, 217.

O'Hara, C. M., Brenner, F. W., & Miller, J. M. 2000. Classification, identification, and clinical significance of Proteus, Providencia, and Morganella. Clinical microbiology reviews, 13(4): 534-546.

Ong, C. L. Y., Ulett, G. C., Mabbett, A. N., Beatson, S. A., Webb, R. I., Monaghan, W., & Schembri, M. A. 2008. Identification of type 3 fimbriae in uropathogenic Escherichia coli reveals a role in biofilm formation. Journal of bacteriology, 190(3): 1054-1063.

Paczosa, M. K., & Mecsas, J. 2016. Klebsiella pneumoniae: going on the offense with a strong defense. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80(3): 629–661.

Paharik, A. E., & Horswill, A. R. 2016. The staphylococcal biofilm: adhesins, regulation, and host response. Virulence mechanisms of bacterial pathogens, 529-566.

Persat, A., Nadell, C. D., Kim, M. K., Ingremeau, F., Siryaporn, A., Drescher, K., & Stone, H. A. 2015. The mechanical world of bacteria. Cell, 161(5): 988-997.

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

Pourzare, M., Derakhshan, S., & Roshani, D. 2017. Distribution of uropathogenic virulence genes in Escherichia coli isolated from children with urinary tract infection in Sanandaj, Iran. Archives of Pediatric Infectious Diseases, 5(3).

Pramodhini, S., Niveditha, S., Umadevi, S., Kumar, S., & Stephen, S. 2012. Antiobiotic resistance pattern of biofilm-forming uropathogens isolated from catheterised

patients in Pondicherry, India. Australasian Medical Journal, 5(7): 344–348. https://doi.org/10.4066/AMJ.2012.1193

Pratt, L. A., & Kolter, R. 1998. Genetic analysis of Escherichia coli biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. Molecular microbiology, 30(2): 285-293.

Raetz, C. R., & Whitfield, C. 2002. Lipopolysaccharide endotoxins. Annual review of biochemistry, 71(1): 635-700.

Rahman, S. M. K. 2015. Probiotic properties analysis of isolated lactic acid bacteria from buffalo milk. Arch Clin Microbiol, 7(1): 6.

Rajivgandhi, G., Vijayarani, J., Kannan, M., Murugan, A., Vijayan, R., & Manoharan, N. 2014. Isolation and identification of biofilm forming uropathogens from urinary tract infection and its antimicrobial susceptibility pattern. Int. J. Adv. Lif. Sci, 7(2): 352-363.

Rasheed Hussein, N., Daniel, S., Salim, K., & Saleh Assafi, M. 2017. Urinary Tract Infections and Antibiotic Sensitivity Patterns Among Women Referred to Azadi Teaching Hospital, Duhok, Iraq. Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection, 5(2): 27–30. https://doi.org/10.34172/ajcmi.2018.05

Rashid, T., & Ebringer, A. 2007. Rheumatoid arthritis is linked to Proteus—the evidence. Clinical rheumatology, 26(7): 1036-1043.

Rashmi Karigoudar, Karigoudar, M. H., Wavare, S. M., & Mangalgi, S. S. 2019. Detection of biofilm among uropathogenic Escherichia coli and its correlation with antibiotic resistance pattern. Journal of laboratory physicians, 11(01): 017-022.

Raz, R., & Stamm, W. E. 1993. A controlled trial of intravaginal estriol in postmenopausal women with recurrent urinary tract infections. New England journal of medicine, 329(11): 753-756.

Remans, K., Vercammen, K., Bodilis, J., & Cornelis, P. 2010. Genome-wide analysis and literature-based survey of lipoproteins in Pseudomonas aeruginosa. Microbiology, 156(9): 2597-2607.

Roesch, P. L., Redford, P., Batchelet, S., Moritz, R. L., Pellett, S., Haugen, B. J., & Welch, R. A. 2003. Uropathogenic Escherichia coli use d-serine deaminase to

modulate infection of the murine urinary tract. Molecular microbiology, 49(1): 55-67.

Rosen, D. A., Pinkner, J. S., Walker, J. N., Elam, J. S., Jones, J. M., & Hultgren, S. J. 2008. Molecular variations in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli FimH affect function and pathogenesis in the urinary tract. Infection and immunity, 76(7): 3346-3356.

Różalski, A. 2015. Lipopolysaccharide (LPS, endotoxin) of Proteus bacteria-chemical structure, serological specificity and the role in pathogenicity. Acta Universitatis Lodziensis. Folia Biologica et Oecologica, (Acta Universitatis Lodziensis. Folia Biologica et Oecologica 04/2008).

Sahib, A. S., Mohammed, I. H., & Hamdan, S. J. 2012. Use of aqueous extract of corn silk in the treatment of urinary tract infection. Journal of Complementary Medicine Research, 1(2): 93-96.5.

Salvatore, S., Salvatore, S., Cattoni, E., Siesto, G., Serati, M., Sorice, P., & Torella, M. 2011. Urinary tract infections in women. European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology, 156(2): 131-136.

Salwa Almukhtar, S. H. 2018. Urinary tract infection among women aged (18-40) years old in Kirkuk city, Iraq. The Open Nursing Journal, 12(1).

Sambrook, J. and Russel, D. W. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd Ed. New York, Cold Spring Harbor; 2001: 1- 4.

Sampath, V. 2018. Bacterial endotoxin-lipopolysaccharide; structure, function and its role in immunity in vertebrates and invertebrates. Agriculture and Natural Resources, 52(2): 115-120.

Sanchez, C. J., Mende, K., Beckius, M. L., Akers, K. S., Romano, D. R., Wenke, J. C., & Murray, C. K. 2013. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. BMC infectious diseases, 13(1): 1-12.

Sanjay, M., Mahato, A., & Yadav, J. 2018. Prevalence and identification of uropathogens in eastern Nepal and understanding their antibiogram due to multidrug resistance and Esbl. Asian Pac J Microbiol Res, 2(1): 09-17.

Sarshar, M., Behzadi, P., Ambrosi, C., Zagaglia, C., Palamara, A. T., & Scribano, D. (2020). FimH and anti-adhesive therapeutics: A disarming strategy against uropathogens. Antibiotics, 9(7), 397.

Saxena, P., Joshi, Y., Rawat, K., & Bisht, R. 2019. Biofilms: architecture, resistance, quorum sensing and control mechanisms. Indian journal of microbiology, 59(1): 3-12.

Schaffer, J. N., & Melanie, M. P. 2015. Proteus mirabilis and urinary tract infections. Microbiol Spectr 3: 1–66.

Schroll, C., Barken, K. B., Krogfelt, K. A., & Struve, C. 2010. Role of type 1 and type 3 fimbriae in Klebsiella pneumoniae biofilm formation. BMC microbiology, 10(1): 1-10.

Schwan, W. R. 2011. Regulation of fim genes in uropathogenic Escherichia coli. World journal of clinical infectious diseases, 1(1): 17.

Serra, D. O., Richter, A. M., & Hengge, R. 2013. Cellulose as an architectural element in spatially structured Escherichia coli biofilms. Journal of bacteriology, 195(24): 5540-5554.

Shanmugam, K., Thyagarajan, R., Katragadda, R., Vajravelu, L., & Lakshmy, A. 2017. Biofilm formation and Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBL) producers among the gram negative bacteria causing Urinary tract infections. Int J Med Microbiol Trop Dis, 3(3): 86-90.

Siham, Sh., AL-Salihi, A., Yusra, A., Mahmood, M. and Ali, S. A. 2012. Pathogenicity of Klebsiella pneumoniae isolated from diarrheal cases among children in Kirkuk city, Tikrit Journal of Pure Science, Vol. 17(4): 17-25.

Simpson, B. W., May, J. M., Sherman, D. J., Kahne, D., & Ruiz, N. 2015. Lipopolysaccharide transport to the cell surface: biosynthesis and extraction from the inner membrane. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 370(1679): 20150029.

Sobel, J. D. and Kaye, D. 2014. Urinary tract infections. In: Mandell GL, Bennett JE, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014: 886-913.

Solis-Velazquez, O. A., Gutiérrez-Lomelí, M., Guerreo-Medina, P. J., de Lourdes Rosas-García, M., Iñiguez-Moreno, M., & Avila-Novoa, M. G. 2021. Nosocomial pathogen biofilms on biomaterials: Different growth medium conditions and components of biofilms produced in vitro. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 54(6): 1038-1047.

Soto, S. M. 2014. Importance of biofilms in urinary tract infections: new therapeutic approaches. Advances in biology, 2014.

Sperber, W. Z., & Tatini, S. R. 1975. Interpretation of the tube coagulase test for identification of Staphylococcus aureus. Applied microbiology, 29(4): 502-505.

Stahlhut, S. G., Chattopadhyay, S., Struve, C., Weissman, S. J., Aprikian, P., Libby, S. J., Fang, F. C., Krogfelt, K. A., & Sokurenko, E. V. 2009. Population variability of the FimH type 1 fimbrial adhesin in klebsiella pneumoniae. Journal of Bacteriology, 191(6): 1941–1950. https://doi.org/10.1128/JB.00601-08

Stahlhut, S. G., Struve, C., Krogfelt, K. A., & Reisner, A. 2012. Biofilm formation of Klebsiella pneumoniae on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 65(2): 350-359.

Stamm, W. E., McKevitt, M., Roberts, P. L., & White, N. J. 1991. Natural history of recurrent urinary tract infections in women. Reviews of infectious diseases, 13(1): 77-84.

Stapleton, A. E., Dziura, J., Hooton, T. M., Cox, M. E., Yarova-Yarovaya, Y., Chen, S., & Gupta, K. 2012. February. Recurrent urinary tract infection and urinary Escherichia coli in women ingesting cranberry juice daily: a randomized controlled trial. In Mayo Clinic Proceedings (Vol. 87, No. 2, pp. 143-150). Elsevier.

Stickler, D., Morris, N., Moreno, M. C., & Sabbuba, N. 1998. Studies on the formation of crystalline bacterial biofilms on urethral catheters. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 17(9): 649-652.

Stock, I. 2003. Natural antibiotic susceptibility of Proteus spp., with special reference to P. mirabilis and P. penneri strains. Journal of chemotherapy, 15(1): 12-26.

Stowe, S. D., Richards, J. J., Tucker, A. T., Thompson, R., Melander, C., & Cavanagh, J. 2011. Anti-biofilm compounds derived from marine sponges. Marine Drugs, 9(10): 2010-2035.

Struve, C., Bojer, M., & Krogfelt, K. A. 2008. Characterization of Klebsiella pneumoniae type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. Infection and immunity, 76(9): 4055-4065.

Taj, Y., Essa, F., Aziz, F., & Kazmi, S. U. 2012. Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of Staphylococcus aureus. The Journal of Infection in Developing Countries, 6(05): 403–409.

Tambyah, P. A. 2004. Catheter-associated urinary tract infections: diagnosis and prophylaxis. International journal of antimicrobial agents, 24, 44-48.

Tambyah, P. A., Halvorson, K. T., & Maki, D. G. 1999. February. A prospective study of pathogenesis of catheter-associated urinary tract infections. In Mayo Clinic Proceedings (Vol. 74, No. 2, pp. 131-136). Elsevier.

Tarchouna, M., Ferjani, A., Ben-Selma, W., & Boukadida, J. 2013. Distribution of uropathogenic virulence genes in Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection. International Journal of Infectious Diseases, 17(6): e450-e453.

Tayebi, Z., Seyedjavadi, S. S., Goudarzi, M., Rahimi, M. K., Boromandi, S., Bostanabad, S. Z., & Mahdiyoun, M. 2014. Frequency and antibiotic resistance pattern in gram positive uropathogenes isolated from hospitalized patients with urinary tract infection in Tehran. J Genes Microb Immun, 2014: 1-9.

Tawfeeq, A. A., Aslan, S. R., & Moneeb, S. A. 2020. Molecular investigation of an unusual bacteria causing severe UTI among public water closet users: Mechanisms of characterization and Engineering solutions. EurAsian Journal of BioSciences, 14(2).

Tenke, P., Kovacs, B., Jäckel, M., & Nagy, E. 2006. The role of biofilm infection in urology. World journal of urology, 24(1): 13-20.

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

Torzewska, A., Stączek, P., & Różalski, A. 2003. Crystallization of urine mineral components may depend on the chemical nature of Proteus endotoxin polysaccharides. Journal of medical microbiology, 52(6): 471-477.

Tóth, I., Oswald, E., Szabó, B., Barcs, I., & Emoődy, L. 2002. Virulence markers of human uropathogenic Escherichia coli strains isolated in Hungary. In Genes and Proteins Underlying Microbial Urinary Tract Virulence (pp. 335-338). Springer, Boston, MA.

Touhami, A., Jericho, M. H., & Beveridge, T. J. 2004. Atomic force microscopy of cell growth and division in Staphylococcus aureus. Journal of bacteriology, 186(11): 3286-3295.

Tuttle, A. R., Trahan, N. D., & Son, M. S. 2021. Growth and Maintenance of Escherichia coli Laboratory Strains. Current Protocols, 1(1): e20.

Uhlich, G. A., Cooke, P. H., & Solomon, E. B. 2006. Analyses of the red-dry-rough phenotype of an Escherichia coli O157: H7 strain and its role in biofilm formation and resistance to antibacterial agents. Applied and environmental microbiology, 72(4): 2564-2572.

Van Tyne, D. & Gilmore, M. S. 2014. Friend turned foe: evolution of enterococcal virulence and antibiotic resistance. Annual review of microbiology,68:337-356.

Vasudevan, R. 2015. Emergence of UTI causing Staphylococcus aureus as a superbug: has the pathogen reduced the options of antimicrobial agents for treatment. EC Microbiol, 1: 88-112.

Vega-Hernández, R., Ochoa, S. A., Valle-Rios, R., Jaimes-Ortega, G. A., Arellano-Galindo, J., Aparicio-Ozores, G., ... & Xicohtencatl-Cortes, J. 2021. Flagella, Type I Fimbriae and Curli of Uropathogenic Escherichia coli Promote the Release of Proinflammatory Cytokines in a Coculture System. Microorganisms, 9(11): 2233.

Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. 2020. Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. Antibiotics, 9(2): 59.

Vigil, P. D., Stapleton, A. E., Johnson, J. R., Hooton, T. M., Hodges, A. P., He, Y., & Mobley, H. L. 2011. Presence of putative repeat-in-toxin gene tosA in Escherichia coli predicts successful colonization of the urinary tract. MBio, 2(3): e00066-11.

Vuotto, C., Grosso, F., Longo, F., Balice, M. P., de Barros, M. C., Peixe, L., & Donelli, G. 2017. Biofilm-forming ability and clonality in Acinetobacter baumannii strains isolated from urine samples and urinary catheters in different European hospitals. In Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health (pp. 73-83). Springer, Cham.

Wang, R., Khan, B. A., Cheung, G. Y. C., Bach, T.-H. L., Jameson-Lee, M., Kong, K.-F., Queck, S. Y., & Otto, M. 2011. Staphylococcus epidermidis surfactant

peptides promote biofilm maturation and dissemination of biofilm-associated infection in mice. The Journal of Clinical Investigation, 121(1): 238–248.

Wang, Z. C., Huang, C. J., Huang, Y. J., Wu, C. C., & Peng, H. L. 2013. FimK regulation on the expression of type 1 fimbriae in Klebsiella pneumoniae CG43S3. Microbiology, 159(Pt_7): 1402-1415.

Wasfi, R., Elkhatib, W. F., & Ashour, H. M. 2016. Molecular typing and virulence analysis of multidrug resistant Klebsiella pneumoniae clinical isolates recovered from Egyptian hospitals. Scientific Reports, 6(1): 1–11.

Werneburg, G. T., Henderson, N. S., Portnoy, E. B., Sarowar, S., Hultgren, S. J., Li, H., & Thanassi, D. G. 2015. The pilus usher controls protein interactions via domain masking and is functional as an oligomer. Nature structural & molecular biology, 22(7): 540-546.

Wikler, M. A. 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. CLSI (NCCLS), 26: M7-A7.

Willey, J. M., Sherwood, L., & Woolverton, C. J. 2011. Prescott's microbiology (Vol. 7). New York: McGraw-Hill.

Wilson, C., Thakore, A., Isenberg, D., & Ebringer, A. 1997. Correlation between anti-Proteus antibodies and isolation rates ofP. mirabilis in rheumatoid arthritis. Rheumatology international, 16(5): 187-189.

Winn, W.C. 2006. "Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology." Edisi ke-6. Philadephia: Lippincott Williams & Wilkins (2006).

Wise, G. J., & Schlegel, P. N. 2015. Sterile pyuria. New England Journal of Medicine, 372(11): 1048-1054.

Wright, K. J., Seed, P. C., & Hultgren, S. J. 2005. Uropathogenic Escherichia coli flagella aid in efficient urinary tract colonization. Infection and immunity, 73(11): 7657-7668.

Wu, J. H., Wu, A. M., Tsai, C. G., Chang, X. Y., Tsai, S. F., & Wu, T. S. 2008. Contribution of fucose-containing capsules in Klebsiella pneumoniae to bacterial virulence in mice. Experimental biology and medicine, 233(1): 64-70.

Yadav, K., & Prakash, S. 2017. Screening of ESBL Producing Multidrug Resistant E. coli from Urinary Tract Infection Suspected Cases in Southern Terai of Nepal.

Journal of Infectious Diseases and Diagnosis, 02(02). https://doi.org/10.4172/2576-389x.1000116

Yang, J., Wilksch, J. J., Tan, J. W., Hocking, D. M., Webb, C. T., Lithgow, T., & Strugnell, R. A. 2013. Transcriptional activation of the mrkA promoter of the Klebsiella pneumoniae type 3 fimbrial operon by the c-di-GMP-dependent MrkH protein. PLoS One, 8(11): e79038.

Yu, Victor, Hansen, D. S., Ko, W. C., Sagnimeni, A., Klugman, K. P., Von Gottberg, A., & International Klebsiella Study Group. 2007. Virulence characteristics of Klebsiella and clinical manifestations of *K. pneumoniae* bloodstream infections. Emerging infectious diseases, 13(7): 986.

Zaki, M. E. 2009. Correlation of biofilm formation of uropathogenic Escherichia coli (UPEC) and fimbriae genotypes. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2(5): 49-53.

Zbinden, A., Bottger, E. C., Bosshard, P. P., & Zbinden, R. 2007. Evaluation of the colorimetric VITEK 2 card for identification of gram-negative nonfermentative rods: comparison to 16S rRNA gene sequencing. Journal of clinical microbiology, 45(7): 2270-2273.

Zhang, G., Meredith, T. C., & Kahne, D. 2013. On the essentiality of lipopolysaccharide to Gram-negative bacteria. Current opinion in microbiology, 16(6): 779-785.

Zinnah, M. A., Bari, M. R., Islam, M. T., Hossain, M. T., Rahman, M. T., Haque, M. H., & Islam, M. A. 2007. Characterization of Escherichia coli isolated from samples of different biological and environmental sources. Bangladesh Journal of Veterinary Medicine, 25-32.

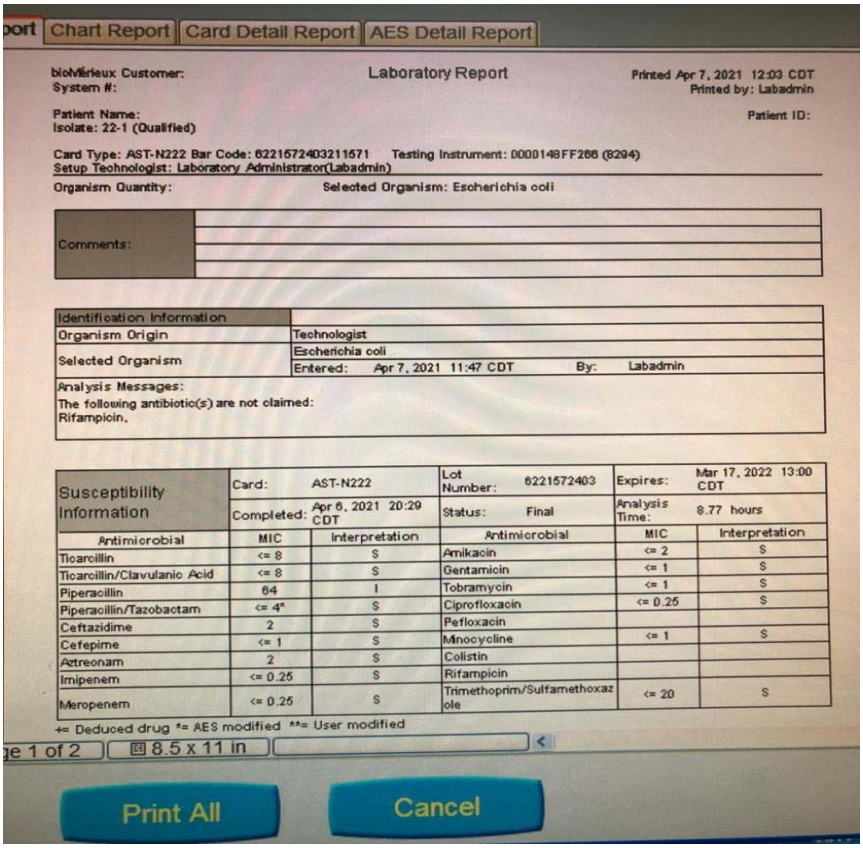
EKLER

EK 1. Vitek2 kompakt sistemi ile antibiyotiğe hassasiyet test raporu

EK 2. Vitek2 kompakt sistemi ile antibiyotiğe hassasiyet test raporu

EK3. Hastene izin belgesi

EK 1. Vitek2 kompakt sistemi ile antibiyotiğe hassasiyet test raporu



port | Chart Report | Card Detail Report | AES Detail Report

bioMérieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed Apr 7, 2021 12:03 CDT
Printed by: Labadmin

Patient Name:
Isolate: 22-1 (Qualified)

Patient ID:

Card Type: AST-N222 Bar Code: 6221572403211671 Testing Instrument: 0000148FF266 (8294)
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Organism Quantity: Selected Organism: Escherichia coli

Comments:	

Identification Information	
Organism Origin	Technologist
Selected Organism	Escherichia coli
	Entered: Apr 7, 2021 11:47 CDT By: Labadmin

Analysis Messages:
The following antibiotic(s) are not claimed:
Rifampicin.

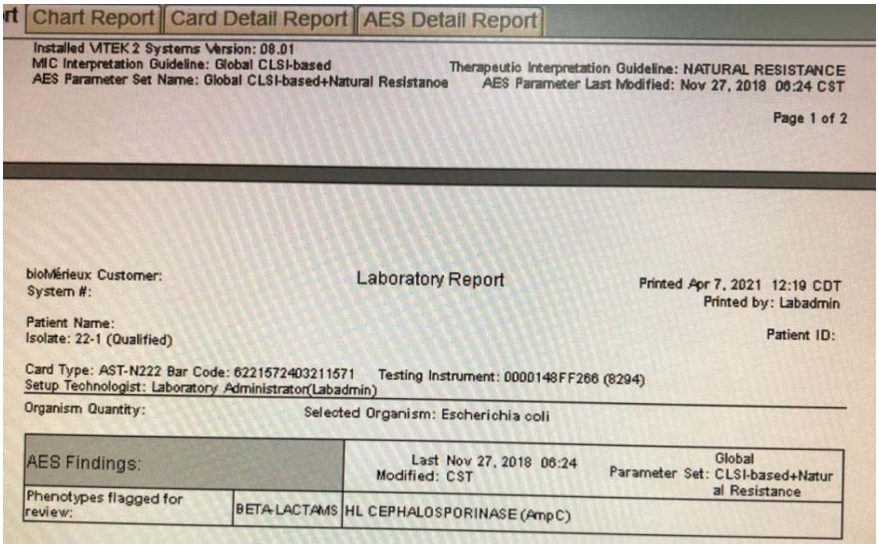
Susceptibility Information	Card: AST-N222		Lot Number: 6221572403	Expires: Mar 17, 2022 13:00 CDT	
	Completed: Apr 6, 2021 20:29 CDT		Status: Final	Analysis Time: 8.77 hours	
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Ticarcillin	<= 8	S	Amikacin	<= 2	S
Ticarcillin/Clavulanic Acid	<= 8	S	Gentamicin	<= 1	S
Piperacillin	64	I	Tobramycin	<= 1	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4*	S	Ciprofloxacin	<= 0.25	S
Ceftazidime	2	S	Pefloxacin		
Cefepime	<= 1	S	Minocycline	<= 1	S
Aztreonam	2	S	Colistin		
Imipenem	<= 0.25	S	Rifampicin		
Meropenem	<= 0.25	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	<= 20	S

+= Deduced drug *= AES modified **= User modified

ge 1 of 2 | 8.5 x 11 in

Print All | Cancel

EK 2. Vitek2 kompakt sistemi ile antibiyotiğe hassasiyet test raporu



rt Chart Report | Card Detail Report | AES Detail Report

Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01
MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based — Therapeutic Interpretation Guideline: NATURAL RESISTANCE
AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Natural Resistance — AES Parameter Last Modified: Nov 27, 2018 06:24 CST

Page 1 of 2

bioMérieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed Apr 7, 2021 12:19 CDT
Printed by: Labadmin

Patient Name:
Isolate: 22-1 (Qualified)

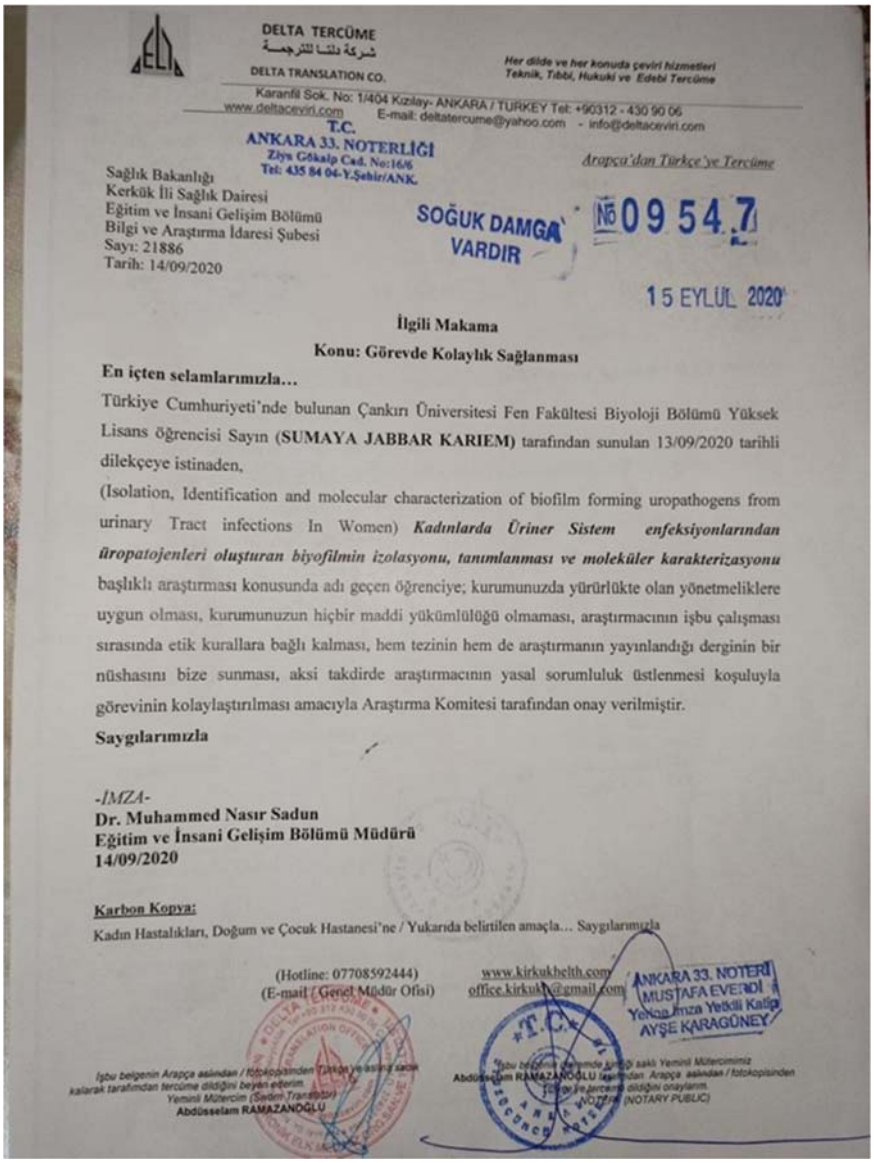
Patient ID:

Card Type: AST-N222 Bar Code: 6221572403211571 Testing Instrument: 0000148FF266 (8294)
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Organism Quantity: Selected Organism: Escherichia coli

AES Findings:		Last Modified: Nov 27, 2018 06:24 CST	Parameter Set: Global CLSI-based+Natural Resistance
Phenotypes flagged for review:	BETA-LACTAMS	HL CEPHALOSPORINASE (AmpC)	

EK3.Hastane izin belgesi



DELTA TERCÜME
شركة دلتا للترجمة
DELTA TRANSLATION CO.
Her dilde ve her konuda çeviri hizmetleri
Teknik, Tıbbi, Hukuki ve Edebi Tercüme
Karanfil Sok. No: 1/404 Kızılay- ANKARA / TURKEY Tel: +90312 - 430 90 06
www.deltaceviri.com E-mail: deltatercume@yahoo.com - info@deltaceviri.com

T.C.
ANKARA 33. NOTERLİĞİ
Ziya Gökalp Cad. No:16/6
Tel: 435 84 04-Y.Şehir/ANK.

Arapça'dan Türkçe'ye Tercüme

Sağlık Bakanlığı
Kerkük İli Sağlık Dairesi
Eğitim ve İnsani Gelişim Bölümü
Bilgi ve Araştırma İdaresi Şubesi
Sayı: 21886
Tarih: 14/09/2020

SOĞUK DAMGA VARDIR

№09547

15 EYLÜL 2020

İlgili Makama

Konu: Görevde Kolaylık Sağlanması

En içten selamlarımızla…

Türkiye Cumhuriyeti'nde bulunan Çankırı Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans öğrencisi Sayın **(SUMAYA JABBAR KARIEM)** tarafından sunulan 13/09/2020 tarihli dilekçeye istinaden,

(Isolation, Identification and molecular characterization of biofilm forming uropathogens from urinary Tract infections In Women) ***Kadınlarda Üriner Sistem enfeksiyonlarından üropatojenleri oluşturan biyofilmin izolasyonu, tanımlanması ve moleküler karakterizasyonu*** başlıklı araştırması konusunda adı geçen öğrenciye; kurumunuzda yürürlükte olan yönetmeliklere uygun olması, kurumunuzun hiçbir maddi yükümlülüğü olmaması, araştırmacının işbu çalışması sırasında etik kurallara bağlı kalması, hem tezinin hem de araştırmanın yayınlandığı derginin bir nüshasını bize sunması, aksi takdirde araştırmacının yasal sorumluluk üstlenmesi koşuluyla görevinin kolaylaştırılması amacıyla Araştırma Komitesi tarafından onay verilmiştir.

Saygılarımızla

-İMZA-
Dr. Muhammed Nasır Sadun
Eğitim ve İnsani Gelişim Bölümü Müdürü
14/09/2020

Karbon Kopya:
Kadın Hastalıkları, Doğum ve Çocuk Hastanesi'ne / Yukarıda belirtilen amaçla… Saygılarımızla

(Hotline: 07708592444)
(E-mail / Genel Müdür Ofisi)
www.kirkukhelth.com
office.kirkukhc@gmail.com

ANKARA 33. NOTERİ
MUSTAFA EVERDİ
Yetkili Kalfa
AYŞE KARAGÜNEY

İşbu belgenin Arapça aslından / fotokopisinden Türkçe'ye aslına sadık kalarak tarafımdan tercüme dildiğini beyan ederim.
Yeminli Mütercim (Sworn Translator)
Abdüsselam RAMAZANOĞLU

İşbu belgenin ekteki Arapça aslından / fotokopisinden Türkçe'ye tercüme dildiğini onaylarım.
NOTER (NOTARY PUBLIC)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Sumaya Jabbar Kariem ASKAR

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Teknik Üniversite Tıbbi Laboratuvar Bölümü	2006-2009

İş Deneyimi

Yıl	**Kurum**	**Görev**
2010-Halen	Kerkük Sağlık Dairesi, Laboratuvar	Tıbbi teknisyen