T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI* SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİ, GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ÜRETİMİ VE BİYOFİLM ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Mehmet Akif BOZKIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ LABORATUVAR ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Ahmet UYSAL

KONYA-2020

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI* SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİ, GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ÜRETİMİ VE BİYOFİLM ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Mehmet Akif BOZKIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ LABORATUVAR ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Ahmet UYSAL

KONYA-2020

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezimin hazırlanması sırasında ve eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ahmet UYSAL ve bu süreçte bize anlayış gösteren kıymetli ailesine teşekkürlerimi sunarım. Eğitimim boyunca pratik ve teorik bilgilerini benimle paylaşan saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. Mustafa Onur ALADAĞ'a (S.Ü. Sağlık Hizmetleri MYO Tıbbi Laboratuvar Programı); laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Erdoğan Güneş (S.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) ve Doç Dr.Evren Yıldıztugay (S.Ü. Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü) hocalarıma; Moleküler Biyolyoloji laboratuvarının bütün imkanlarını kullanmamızı sağlayan ve emeği geçen Prof. Dr. Emine ARSLAN hocama (S.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) teşekkür ederim.

Tezimde kullanılan suşların toplanmasında çok büyük emeği olan kıyetli dostlarım Ali GÜRBÜZ, Bayram ŞEKER ve Ahmet DEMİRDELEN'e, her konuda engin tecrübeleriyle yoluma ışık tutan değerli büyüğüm Niyazi DÜNDAR'a; bu günlere gelmemi sağlayan, beni büyüten, varlıkları ile bana güç veren, hayatımın her aşamasında bana destek olan annem Müzeyyen BOZKIR, babam Memiş BOZKIR, abilerim Salim ve Ali BOZKIR'a; eğitim sürem boyunca, benden desteklerini esirgemeyen annem Ulviye ŞAHİN ve babam Nebi ŞAHİN'e ayrıca teşekkür ederim.

Özellikle tez çalışmalarım süresince gösterdiği anlayış ve fedakarlıklardan dolayı sevgili eşim Şerife BOZKIR, oğlumuz Memiş Eymen BOZKIR ve aramıza yeni katılan kızımız İkra BOZKIR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mehmet Akif BOZKIR

Konya, 2020

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **iv**
ÖZET ..... **v**
SUMMARY ..... **vi**
1. GİRİŞ **1**
2. GEREÇ VE YÖNTEM **27**
2.1. Gereç 27
2.1.1. Bakteri Suşları 27
2.1.2. Kullanılan besi yerleri, kimyasal maddeler ve hazırlanması 27
2.1.3. Multipleks PZR için kullanılan malzeme ve ekipmanlar 30
2.2. Yöntem 30
2.2.1. Suşların Chromocult TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar besiyeri ile identifikasyonu 30
2.2.2. Disk difüzyon yöntemi 31
2.2.3. Çift disk sinerji yöntemi 32
2.2.4. Kristal Viyole Boyama Yöntemi 33
2.2.5. *E. coli* suşlarının DNA izolasyonu ve GSBL genlerinin Multipleks ve *fim*H geninin klasik PZR yöntemi ile belirlenmesi 34
3. BULGULAR **36**
3.1. *E. coli* suşlarının kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları 36
3.2. *E. coli* suşlarının GSBL üretiminin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi 41
3.3. Biyofilm test sonuçları 45
4. TARTIŞMA **50**
5. SONUÇ VE ÖNERİLER **60**
6. KAYNAKLAR **62**
7. EKLER **72**
8. ÖZGEÇMİŞ **74**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

bç	:	baz çifti
°C	:	santigrat derece
cm	:	santimetre
g	:	gram
l	:	litre
mg	:	miligram
ml	:	mililitre
mm	:	milimetre
mM	:	milimolar
µg	:	mikrogram
µl	:	mikrolitre
mV	:	milivolt
nm	:	nanometre

Kısaltmalar

CLSI	:	Clinical Laboratory Standarts Institute
AM	:	Ampisilin
C	:	Kloramfenikol
AK	:	Amikasin
CN	:	Gentamisin
CTX	.	Sefotaksim
CAZ	:	Seftazidim
CXM	:	Sefuroksim
CIP	:	Siprofloksasin
TE	:	Tetrasiklin
K	:	Kanamisin
IPM	:	Imipenem
MEM	:	Meropenem
AMC	:	Amoksisilin/klavulanik asit
OFX	:	Ofloxacin
ATM	:	Aztreonam
ETP	:	Ertapenem
NA	:	Nalidiksik asid
FEP	:	Sefepim
NOR	:	Norfloksasin
MXF	:	Moksifloksasin
TSB	:	Triptik Soy Broth
ÇAD	:	Çoklu antibiyotik direnci
MHA	:	Müeller Hinton agar
PBS	:	Phosphate Buffered Saline
GSBL	:	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
İYE	:	İdrar Yolu Enfeksiyonu
UPEC	:	Üropatojenik *Escherichia coli*
PZR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İdrar Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Direnç Profilleri, Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üretimi ve Biyofilm Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Mehmet Akif BOZKIR
Tıbbi Laboratuvar Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi/KONYA-2020

Bu çalışmada; idrar yolu enfeksiyonlarından izole ve identifiye edilen 135 *Escherichia coli* suşunun; yirmi farklı antibiyotiğe duyarlılıkları; genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi (GSBL) üretimleri ve biyofilm oluşturma özellikleri açısından değerlendirildi. Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için, disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Suşların %65,1'nin en az bir veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olduğu ve suşlar arasında 69 farklı direnç profili olduğu belirlendi. Suşlar arasındaki en yüksek direnç oranı %50,4 ile ampisiline karşı olduğu, bunu %40,7 tetrasiklin, %40 nalidiksik asid, %31,1 ofloksasin ve moksifloksasin, %28,9 ile amoksisilin/klavulanik asit ve siprofloksasin'in takip ettiği görüldü. Suşlar meropeneme karşı %100 duyarlı olarak gözlemlendi, bunu %1,48 oranı ile imipenem ve %2,2 oranı ile amikasinin takip ettiği görüldü. GSBL üretiminin belirlenmesi için çift disk sinerji yöntemi kullanıldı. Fenotipik olarak GSBL pozitif suş sayısı 16 (%11,8) olarak tespit edildi. GSBL pozitif suşların genotipik olarak GSBL genlerinin tespiti amacı ile multipleks PZR yöntemi kullanıldı. Bu yöntem ile *blaCTX-M, blaTEM, blaSHV, blaOXA* beta laktamaz genleri araştırıldı. GSBL pozitif suşlarda en yaygın genin %93,7 oranı ile *blaTEM* geni olduğu ortaya koyuldu. Biyofilm oluşturma özellikleri ise kristal viyole boyama yöntemi ile saptandı. Suşların fenotipte %7,4 (10)'ü biyofilm pozitif olarak tespit edildi ve bu suşların genotipde *fimH* geni varlığı PZR yöntemi ile ortaya koyuldu. Bu analiz sonucuna göre biyofilm pozitif suşların, biyofilm oluşumunda önemli bir virülans faktörü olan *fimH* (508 bç) geni yönünden pozitif olduğu doğrulandı.

Üropatojenik *Escherichia coli* enfeksiyonları dünya çapında ciddi bir sorun haline gelmiştir. Hem sentetik hem de doğal antibiyotiklere karşı artan direnç ve özellikle biyofilm oluşturabilen suşlar, yeni ve daha ciddi hastalıkların ortaya çıkmasıyla enfeksiyonun tekrarlamasına ve kronikleşmesine neden olmaktadır. Bu sebeple üropatojenik *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç özelliklerinin ve biyofilm oluşum mekanizmalarının karakterizasyonu ile ilgili sürveyans çalışmaları yapılmalı ve yeni terapötik çözümlerin geliştirilmesine olanak sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, Biyofilm, *fimH*, GSBL, Üropatojenik *Escherichia coli.*

SUMMARY

T. C.
SELCUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Evaluation of Antibiotic Resistance Patterns, Extended Spectrum of Beta Lactamase Production and Biofilm Properties of *Escherichia coli* Strains Isolated from Urinary Tract Infections

Mehmet Akif BOZKIR
Department of Medical Laboratory

Master Thesis/KONYA-2020

In this study; 135 Escherichia coli strains isolated and identified from urinary tract infections; were evaluated for their sensitivity to twenty different antibiotics; extended spectrum of beta lactamase enzyme (ESBL) production and biofilm formation properties. Disc diffusion method was used to determine antibiotic susceptibilities. It was determined that 65.1% of the strains were resistant to at least one or more antibiotics and there were 69 different resistance profiles among the strains. It was seen that the highest resistance rate among strains was 50.4% against ampicillin, followed by 40.7% tetracycline, 40% nalidixic acid, 31.1% ofloxacin and moxifloxacin, 28.9% amoxicillin / clavulanic acid and ciprofloxacin. Strains were observed to be 100% sensitive to meropenem, followed by imipenem with a rate of 1.48% and amikacin with a rate of 2.2%. Double disk synergy method was used to determine the production of ESBL. It was determined that phenotypically, the number of ESBL positive strains was 16 (11.8%). Multiplex PCR method was used to detect the ESBL genes genotypically in ESBL positive strains. With this method, *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaSHV*, *blaOXA* beta lactamase genes were investigated. It was revealed that the most common gene in ESBL positive strains was the blaTEM gene with a rate of 93.7%. Biofilm production properties were determined by crystal violet staining method. 7.4% (10) of the strains in the phenotype were found to be biofilm positive, and the presence of a *fimH* gene in the genotype of these strains was revealed by the PCR method. According to the results of this analysis, it was confirmed that biofilm positive strains were positive for the *fimH* (508 bp) gene, an important virulence factor in biofilm formation.

Uropathogenic Escherichia coli infections have become a serious problem worldwide. Increased resistance to both synthetic and natural antibiotics, and especially strains that can form biofilm, cause the infection to recur and become chronic with the emergence of new and more serious diseases. For this reason, surveillance studies should be conducted on the characterization of antibiotic resistance properties and biofilm formation mechanisms of uropathogenic E. coli strains and it should be possible to develop new therapeutic solutions.

Key Words: Antibiotic resistance, Biofilm, *fimH*, ESBL, Uropathogenic *Escherichia* coli.

1. GİRİŞ

Patojen mikroorganizmaların varlığı insan hayatını sürekli tehdit eden bir unsur haline gelmiştir. Bu mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonlar insanların yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Enfeksiyonlarla mücadele etmenin yolu antibiyotiklere dayanmaktadır. Antibiyotiklerin keşfi tıpta devrim yaratmış ve birçok yönden insan sağlığını ve refahını daha iyi hale getirmiştir. Antibiyotik kullanılmadan önce *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bakteremisinde ölüm oranı oldukça yüksek olup, çoğu yara enfeksiyonu amputasyonla tedavi edilmiştir. Örneğin, Birinci Dünya Savaşı'ndaki amputasyonların yaklaşık %70'i yara enfeksiyonlarının sonucudur (Hirsch 2008, Li ve Webster 2018). Antibiyotiklerin tanıtılması, enfekte olmuş hastaların kaderini ve çeşitli hastalıkların ve cerrahi prosedürlerin tedavi şeklini önemli ölçüde değiştirmiştir (Li ve Webster 2018).

Antibiyotikler bakterilere karşı tartışmasız en başarılı tedavi şeklidir. Uzun bir süre önce keşfedilmeleri ve ticari kullanıma girmelerinden bu yana, antibiyotikler her gün sayısız insan hayatını kurtarmıştır (Banin ve ark 2017). Antibiyotikler ilk olarak 1800'lerin sonunda keşfedilmiş ve 1900'lerin başında penisilin geliştirilmiştir. Penisilinin başarısını çeşitli yeni antibiyotiklerin gelişimi izlemiştir (Li ve Webster 2018). 1930'larda sulfonamidlerin tıbbi uygulamasına başlanmasıyla, 1940'larda penisilin ve streptomisin, 1950'lerde geniş spektrumlu bakteriyostatik antibiyotikler, ardından diğer önemli sentetik kimyasallar ve oldukça spesifik dar spektrum ile birlikte 1960'larda bakterisit antibiyotiklerin keşfi, bakterilerin neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde devrim niteliğinde bir aşama olduğunu düşündürmüştür (Komolafe 2003). Modern tıp, antibiyotik tedavisinin etkinliğine bağlıdır. İdrar yolu, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, zatürre ve endokardit, menenjit ve sepsis gibi hayatı tehdit eden enfeksiyonlar gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisi için gerekli olduğu kadar, sezaryen ve organ nakilleri gibi ileri tıbbi prosedürleri sürdürmek için de gereklidir (Banin ve ark 2017).

Ancak antibiyotiklerde zamanla etkilerini kaybetmektedir. Çünkü bakterilerin antibiyotiklere karşı savunma mekanizmaları vardır ve her geçen gün bu mekanizmalarını geliştirmektedirler. İşte bu durum antibiyotik direnci olarak açıklanmaktadır. Bakteriler, çevrelerinde meydana gelen değişikliklere hızlı uyum sağlayabilen canlılardır. Antibiyotik direnci de bunun bir örneğidir. Belirli bir

antibiyotiğe karşı direnç, söz konusu antibiyotiğin tedavi dozunda dirençli bakterileri öldüremediğini veya çoğalmalarına engel olamadığını ifade etmektedir. Antibiyotik direnci, yaygın ve artan antibiyotik kullanımından kaynaklanmakta (Levy 2002, Holvoet ve ark 2013, Vital ve ark 2018), ve giderek artan bir şekilde küresel bir sağlık kaygısı haline gelmektedir. Çünkü bu durum mevcut tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır, bu da daha fazla hastaneye yatış, yüksek tedavi maliyetleri ve artan mortalite ve morbidite oranları ile sonuçlanmaktadır (Vital ve ark 2018).

Escherichia coli, doğada yaygın olarak bulunabilen, fakültatif, anaerob, Gram negatif, laboratuvar koşullarında kolayca ve ucuz bir şekilde yetiştirilebilen, çubuk şeklinde bir bakteridir. Biyoloji mühendisliği ve endüstriyel mikrobiyolojide farklı çalışmalar için model organizma olarak kabul edilmiştir (Lee 1996, Sharma ve ark 2016). *E. coli* suşlarının çoğu bağırsaklarda bulunur ve patojenik bakterilerin kolonileşmesini önleyerek konakçıya fayda sağlamaktadır (Sharma ve ark 2016). Antibiyotik direnci prevalansının arttığı en dikkat çekici *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinden biri, *Escherichia coli* dir. İdrar yolu enfeksiyonu dünya çapında ciddi bir sağlık tehdidi olarak görülmektedir. İdrar yolu enfeksiyonu (İYE)'ye neden olan *E. coli* suşları üropatojenik *E. coli* (UPEC) olarak adlandırılmaktadır (Sharma ve ark 2016). İYE için en sık neden olan etken *E. coli* olarak kabul edilmiştir ve bu izolatların çoğu ampisilin, amoksisilin-klavulanik asit, norfloksasin, sefuroksim, seftriakson ve ko-trimoksazol gibi antibiyotiklere dirençli olarak kabul edilmiştir (Niranjan ve Malini 2014, Sharma ve ark 2016). UPEC, toplum kökenli ve nozokomiyal İYE'lerin baskın nedenidir (Emody ve ark 2003, Ejrnaes ve ark 2011, Zamani ve Salehzadeh 2018). *E. coli*, dünya genelinde 130-175 milyon idrar yolu enfeksiyonu ve ABD'de her yıl 127,500 sepsis vakasından sorumludur ve bu da yüksek morbidite ve mortalite oranları ile sağlık bakım maliyetlerinde büyük bir yük oluşturmaktadır (Russo ve Johnson 2003, Surgers ve ark 2019).

Bakteriler, dirence neden olan genetik yapıları farklı bakteri türlerine de aktarabilir, bu da antibiyotik direncinin bakteriler arasında yaygınlaşmasına önemli katkı sağlamaktadır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), özellikle *Enterobacteriaceae* familyası bakterilerinde bulunan, klavülanik asit tarafından inhibe edilirken birinci, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç sağlayan plazmitler tarafından sıklıkla kodlanan heterojen bir enzim grubudur (Bush ve Jacoby 2010,

Shaikh ve ark 2015, Maslikowska ve ark 2016, Danino ve ark 2018, Moawad ve ark 2018). Klinik bakterilerde GSBL kodlayan genlerin çoğu plazmitlerin üzerinde yer almaktadır (Brolund 2014, Moawad ve ark 2018). Bu plazmitler ayrıca, aminoglikozitler ve florokinolonlar dahil olmak üzere diğer ilaç sınıflarına direnci kodlayan genleri taşıyabilirler (Perez ve Bonomo 2012, Moawad ve ark 2018). GSBL genlerinin iletimi, ortaya çıkan bakteri klonları veya yatay gen transferi ile gerçekleşebilir ve direnç genleri içeren plazmitler, bakteriler arasında yayılabilir (Brolund 2014, Moawad ve ark 2018). Bakterilerin antibiyotiklere direnç metotlarından biri; beta-laktamaz olarak bilinen ve beta-laktam antibiyotiklerini hidrolize eden enzimler üretmesidir. Beta-laktam antibiyotikler penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler dahil en yaygın kullanılan antibiyotiklerdir. (Cantas ve ark 2015, Bollestad ve ark 2018). Bu yüzden *E. coli* tarafından üretilen genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar özellikle önemlidir (Tissera ve Lee 2013, Vital ve ark 2018).

Biyofilm, bir topluluk olarak bir arada yaşayan ve genellikle nemli ortamda katı yüzeylere bağlı bulunan mikroorganizmaların toplamı olarak tanımlanmaktadır. Biyofilmdeki mikroplar, koruyucu bir ekstra sellüler polimerize madde (EPS) olarak adlandırılan ve hayatta kalma verimlerini artıran çeşitli koruyucu maddeler salgılamaktadırlar. Biyofilm oluşumu enfeksiyonu daha da karmaşık hale getirir ve bir biyofilm içindeki önemli sayıda hücrenin yerleşimini, planktonik olarak büyüyen hücrelere kıyasla antibiyotiklere daha toleranslı olarak arttırır (Sharma ve ark 2016). *E. coli'*nin biyofilm oluşturması çeşitli enfeksiyonların oluşumuna katkıda bulunur ve bunların ortadan kaldırılmasını zorlaştırır. *E. coli* biyofilmlerinin birçok bağırsak enfeksiyonunun ana etken maddesi olduğu bulunmuştur. Biyofilmdeki yoğun bakteri hücreleri, quarum algılama (Quarum Sensing) olarak bilinen kimyasal sinyal yolu yoluyla birbirleriyle iletişim kurar. QS sırasında, bakteriyel hücreler hücre içi ortama otomatik indükleyici maddeleri (AI) salgılarlar ve gerekli yüksek yoğunluğa ulaşıldığında, biyofilm oluşumunu ve olgunlaşmasını yükseltirler (Sturbelle ve ark 2015). AI, biyofilmdeki bakteri hücrelerinin virülans faktörlerini salgılamasına, konakçı immün yanıtını modüle etmesine ve genetik değişiklikler tahakkuk etmesine yardımcı olur. Biyofilm, geleneksel antibiyotiklerin penetrasyonunu zorlaştırır ve hücreleri antibiyotiklere daha az duyarlı hale getirir (Ito ve ark 2009, Mittal ve ark 2015). Bu nedenle, özellikle *E. coli* biyofilm oluşumu nedeniyle ortaya çıkan

hastalıklarla mücadele etmek için alternatif terapötik ajanları keşfetmeye ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada idrar yolları enfeksiyonlarından (İYE) izole ve identifiye edilen 135 *Escherichia coli* suşunun çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının araştırılması, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) enzim üretim potansiyellerinin fenotipik ve genotipik belirlenmesi, biyofilm oluşturma yeteneklerinin kristal viyole boyama yöntemi ile fenotipik tespiti ve biyofilm oluşumundan sorumlu gen gruplarından biri olan *fimH* geni yönünden taranması amaçlanmıştır.

KAYNAK ARAŞTIRMASI

E. coli, prokaryot bir organizma olup, ilk olarak Alman bakteriyolog Theodor Escherich tarafından 1885'te enteritli bebeklerden toplanan dışkı örneklerinden izole edilip tanımlanmış ve *Bacterium coli* olarak adlandırılmıştır. Daha sonra ise araştırmacının adını onurlandırmak amacıyla *Escherichia coli* olarak değiştirilmiştir (Manning 2010).

Bakteriler toprak, su, bitkiler, insanlar ve hayvanlar da dahil olmak üzere canlı organizmalarda bulunurlar. *Escherichia* cinsine ve *Enterobacteriaceae* ailesine ait olan *Escherichia coli (E. coli)*, fekal koliform bakteri grubunun bir üyesidir. *Enterobacteriaceae*, sindirim sistemi yapılarından (ağız boşluğu, özofagus, mide, bağırsaklar, rektum ve anüsten) oluşan gastrointestinal (GI) yolda hayatta kalabilen enterik bakteriler olarak adlandırılır. Memelilerin ve kuşların normal bağırsak florasında bulunup, burada diğer flora bakterileri ve organizmalar ile denge içinde kaldığı sürece hastalık yapmazlar. *E. coli* tipik olarak komensal,bir bakteridir. *E. coli* zararsız komensal bakteri olsa da, bazı durumlarda *E. coli* dünya çapında ishal, dizanteri, hemolitik üremik sendrom, mesane ve böbrek enfeksiyonlarını içeren birçok enterik enfeksiyonun etken maddesidir (Uysal ve Durak 2012, Uysal ve ark 2018) (Manning 2010).

E. coli yaklaşık olarak 2-6 μm uzunluğunda ve 1.0-1.5 μm genişliğinde düz, yuvarlak uçlu, çomak şeklinde, sporsuz bir bakteridir. Logaritmik üreme fazında genellikle 2–4 μm uzunluğunda ise de bazen idrarda ve eski kültürlerde daha uzun filamanlar şeklini alabilmektedir. Homojen boyanmakla birlikte granül içermeyen bir yapıya sahiptir. Peritrik kirpikleri sayesinde hareket edebilirler, ama hareketleri yavaştır. Doğada hareketsiz suşları da bulunmaktadır. Bazı suşları ise kapsüllüdür. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar (Ustaçelebi 1999, Bilgehan 2000, Berkiten 2005).

Bağırsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşerek, çeşitli klinik tablolara yol açabilmektedir. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları, akciğer, periton ve menenjlere ulaşan *E. coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar (Bilgehan 2000, Öztelli 2004).

Enterohemorajik *E coli* (EHEC):

E. coli O157: H7 içeren enterohemmorajik *E. coli*'nin ishale neden olduğu bilinmektedir; ateş ve mide kramplarından önce hemorajik kolit veya ağır kanlı ishal; ve öncelikle çocukları etkileyen ve böbrek yetmezliğine ve ölüme neden olabilecek ciddi uzun süreli bir komplikasyon olan hemolitik üremik sendroma (HUS) neden olur. Yetişkinler, HUS'a benzer ciddi ve sıklıkla ölümcül bir durum olan trombotik trombositopenik purpura (TTP) ile sağlık kuruluşlarına başvurabilir. EHEC, Shiga toksini adı verilen güçlü bir toksine sahip olması nedeniyle diğer ishalli *E. coli'*den farklıdır. *E. coli* O157: H7 ve diğer Shiga toksini *üreten E. coli* (STEC) veya farklı serotipler tarafından salınan Shiga toksinlerinin vasküler endotel hücrelerine zarar verdiği gösterilmiştir (Rangel ve ark 2005, Manning 2010).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC):

Dünya çapında en baskın diyarejenik *E. coli* türü olan enterotoksinojenik *E. coli*, mide bulantısı, ishal, mide ağrısı ve halsizlik belirtileriyle kendisini göstererek mide ve bağırsak astarının iltihaplanmasına neden olur. Turist ishali (Montezuma'nın intikamı olarak da bilinir) olarak adlandırılan gezginlerdeki gastroenterit, yerel su veya yiyeceklerde bulunan ETEC bakterilerinden kaynaklanır. ETEC, ısıya dirençli ve ısıya duyarlı olmak üzere iki çeşit enterotoksine sahiptir ve genellikle insanların evde düzenli olarak temas ettiği *E. coli* tiplerinden farklıdır ve bu nedenle seyahat etmenin fiziksel stresiyle birlikte yeni bir *E. coli* tipiyle temas, kişinin hastalığı almasına neden olabilir. Gastroenterite ek olarak, gezgin ishali ayrıca üç ila yedi gün süren şişkinlik, gaz, ateş ve dehidrasyona neden olabilir (Manning 2010).

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC):

İnsanlarda hastalığa neden olduğu belirlenen ilk *E. coli* tipi olan Enteropatojenik *E. coli,* ince bağırsağa saldırırarak 14 günden fazla sürebilen sulu ishale neden olur. Gelişmekte olan ülkelerde, EPEC bebeklerde ishalin önde gelen nedenidir ve genellikle topluluklarda salgınlara neden olur. Daha yakın zamanlarda, yeni bir EPEC genotipi ortaya çıkmıştır. Bu genotipe atipik EPEC denir ve ishal belirtilerinin önemli ölçüde daha uzun sürmesine rağmen, diğer EPEC tiplerinden daha az ciddi hastalığa neden olduğu görülmektedir. Atipik EPEC, önceden şüphelenildiği

gibi gelişmekte olan ülkelerle sınırlı değildir. Son raporlar, gelişmiş ülkelerde de yüksek hastalık sıklığına neden olduğunu göstermektedir (Manning 2010).

Enteroagregative *E. coli* (EAEC):

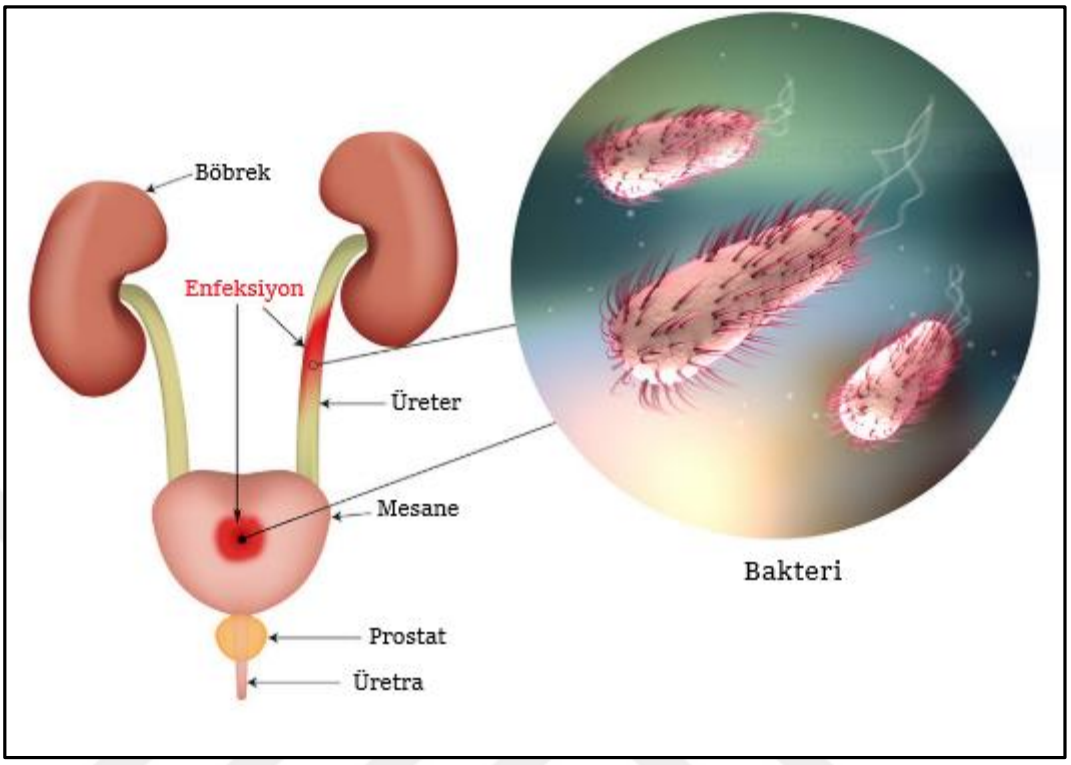
Geçmişte, EAEC enfeksiyonlarının çoğu gelişmekte olan ülkelerde yaşayan çocuklarda görülmüştür, ancak EHEC ve atipik EPEC'e benzer şekilde, EAEC artık gelişmiş ülkelerde ortaya çıkan bir patojen olarak kabul edilmektedir. EAEC enfeksiyonu olan çoğu insanda bazen kan ve mukusun eşlik ettiği sulu ishal vardır. Çoğu durumda, ishal atakları kalıcıdır ve 14 günden fazla sürebilir. Yeni çalışmalar EAEC'nin insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte kişilerde ve gezginlerde de hastalığa neden olabileceğini bulmuştur. Hep–2 (insan tek tabaka tümör hücresi) hücrelerine aderans özelliği olduğundan enteroaderan *E. coli* (EAEC) olarak da isimlendirilirler (Bernier ve ark 2002, Manning 2010).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC):

Diğer ishalli *E. coli*'den farklı olarak, enteroinvaziv *E. coli*, iki yaşın üzerindeki çocukları daha sık etkileme eğilimindedir ve çoğu hastalık üç ila beş yaş arasındaki çocuklarda görülür. EIEC'nin neden olduğu klinik hastalık oldukça şiddetlidir ve *E. coli*'nin yakın bir akrabası olan belirli *Shigella* bakterilerinin neden olduğu dizanteri veya şigelloza benzer. Enfekte bireyler, kanlı olmayan veya kanlı ishal ile birlikte ateş ve abdominal kramp yaşayabilir. EIEC invaziv olarak kabul edilir çünkü tipik olarak kolonu kaplayan hücreleri işgal eder ve yok eder, böylece daha ciddi hastalıklara neden olur (Parsot 2005, Manning 2010).

İshale ek olarak, *E. coli* ayrıca menenjit ve idrar yolu enfeksiyonları (İYE) de dahil olmak üzere bir dizi başka hastalığa neden olur. Bir İYE, mesanenin veya idrar yolları içindeki yapıların enfeksiyonudur (Şekil 1.1). İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) hem toplumda hem de dünya çapında insanlarda en yaygın bakteriyel bulaşıcı hastalıklar arasındadır (Bergsten ve ark 2005, Subhadra ve ark 2018). Dünyada her yıl yaklaşık 150 milyon insan yüksek sosyal maliyetlerle İYE olmaktadır (Flores-Mireles ve ark 2015, Terlizzi ve ark 2017). Kadınların %40'ının yaşamları boyunca en az bir kez İYE atağı geçirdiği (Micali ve ark 2014, Terlizzi ve ark 2017) ve 18 yaşın üzerindeki kadınların %11'inin yılda bir İYE atağı olduğu tahmin edilmektedir (Foxman ve Brown 2003, Foxman 2014, Terlizzi ve ark 2017). Her yıl ABD'de

yaklaşık 11 milyon vaka rapor edildiğinde, maliyetlerin yıllık 5 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (Foxman 2014, Terlizzi ve ark 2017).



Şekil 1.1. İdrar yolu enfeksiyon bölgeleri (Terlizzi ve ark 2017).

İYE, idrarda belirli sayıda (genellikle > 10^5 kob/ml) bakteri varlığına işaret eder ve semptomatik İYE'ler, ürosepsis sendromu, piyelonefrit (veya böbrekte enfeksiyonlu üst İYE) ve sistit veya mesanede bakteri bulunan alt İYE olarak tanımlanır (Foxman 2014, Smelov ve ark 2016, Terlizzi ve ark 2017). İYE'ler, piyelonefrit ve sistit gibi bir dizi rahatsızlığın tetikleyicisidirler (Kulkarni ve ark 2009, Subhadra ve ark 2018).

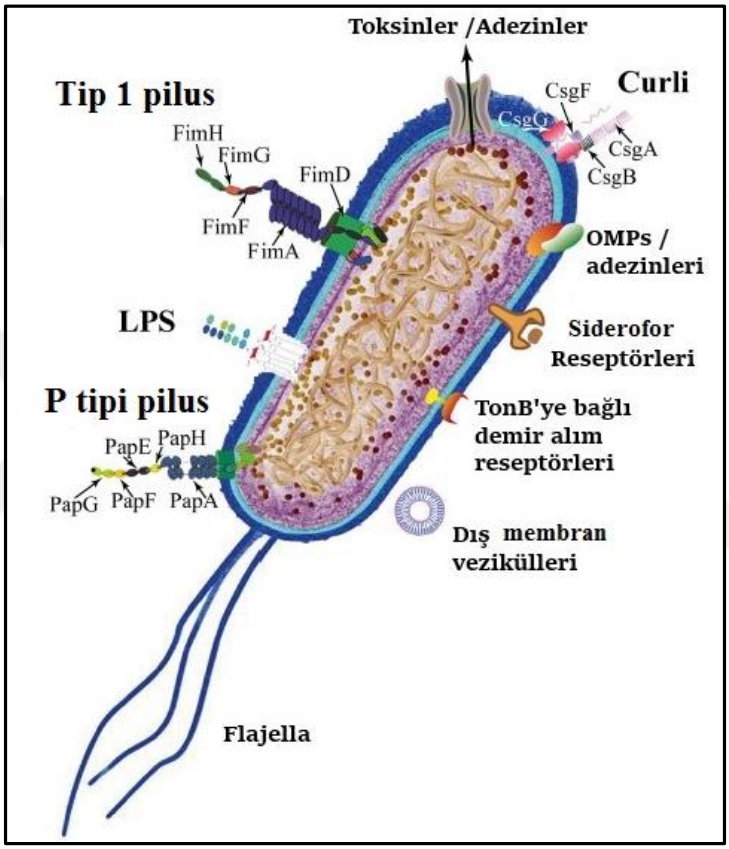
Klinik olarak İYE sınıflandırması, yapısal veya nörolojik idrar yolu anormalliklerinin varlığına bağlı olarak komplikasyonsuz veya komplike olan vakaları içerir (Zacche ve Giarenis 2016, Terlizzi ve ark 2017). ORENUC sistemi risk faktörlerini fenotipe göre sınıflandırır (Johansen ve ark 2011, Terlizzi ve ark 2017). Bu sistemdeki tanımlardan **O:** bilinen bir risk faktörü yok; **R:** daha ciddi bir sonucu olmayan tekrarlayan İYE riski; **E:** ekstraürogenital risk faktörleri; **N**: ilgili nefropatik hastalıklar; **U:** ürolojik çözülebilir (geçici) risk faktörleri; **C:** kalıcı dış üriner kateter ve çözülmemiş ürolojik risk faktörlerini ifade etmektedir (Smelov ve ark 2016, Terlizzi ve ark 2017). Bakteriyel sistit (akut sistit olarak da bilinir) hem kadınlarda hem de

erkeklerde ortaya çıkabilir ve bazı insanlarda idrar yollarında tekrarlayan enfeksiyonlar geliştirir (Fiore ve Fox 2014, Terlizzi ve ark 2017). 12 ay içinde; üç veya daha fazla idrar yolu enfeksiyonu tekrarlayan İYE'yi, 6 ay içinde iki veya daha fazla idrar yolu enfeksiyonu nüks'ü tanımlar. Önceki enfeksiyona neden olan aynı bakteri türü tipik olarak nüksetmelerden sorumludur. Başlangıç İYE'si olan yetişkin kadınların yaklaşık% 20-30'unda 3-4 ay içinde nüks gerçekleşmektedir. Çocukların yaklaşık üçte biri bir yaşından önce İYE geçirir ve üç yıl içinde nüks yaşama ihtimalleri vardır. %18'i birkaç ay içinde nüks gösterecektir (Nuutinen ve Uhari 2001, Terlizzi ve ark 2017). Tekrarlayan İYE'ler farklı kaynaklardan etkilenebilir ve bağırsaktaki aynı veya farklı İYE'ye neden olan suşlar mesaneyi (yeniden) enfekte edebilir. Alternatif olarak, mesane epitelinde bulunan bakteriler periyodik olarak yeniden ortaya çıkabilir ve İYE nüksüne neden olabilir (Silverman ve ark 2013, Terlizzi ve ark 2017). Tekrarlayan İYE'leri olan hastalarda bakım antibiyotik profilaksisi ile sağlanır; ancak bazı durumlarda İYE'nin cerrahi ile tedavi edilmesi gerekebilir (Tolg ve Bagli 2012, Terlizzi ve ark 2017).

Ekstraintestinal *E. coli* (ExPEC) grubu, insanlarda idrar yolu enfeksiyonları (İYE), neonatal sepsis, menenjit ve mastitis olmak üzere, hayvanlarda ise çeşitli bulaşıcı hastalıkların önde gelen nedenlerinden biridir (Vogeleer ve ark 2014, Sharma ve ark 2016). İYE'lerin yaklaşık %90'ından sorumlu başlıca etiyolojik ajan üropatojenik *Escherichia coli'*dir (UPEC) (Foxman ve Brown 2003, Subhadra ve ark 2018). *E. coli* ayrıca protez greftleri ve eklemleri, şantlar, üretral ve intravasküler kateterler gibi cihazlarda çeşitli tıbbi cihazla ilişkili enfeksiyonların nedeni olmuştur. *E. coli*'nin kateterler üzerindeki biyofilm oluşumu, kateterle ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarını (CAUTI) en sık görülen hastane enfeksiyonlarından biri yapmaktadır (Reisner ve ark 2014, Sharma ve ark 2016).

UPEC izolatları, idrar yolundaki bakterilerin kolonizasyonu, konakçı savunmalarının ve ekstra bağırsak hastalıklarının üstesinden gelmek için gerekli farklı virülans faktörlerine sahip olan genetik olarak heterojen bir gruptur. Bu virülans faktörleri arasında fimbrial adezinler (F1C fimbria S, P ve tip 1), afimbrial adezin, toksinler (hemolizin ve sitotoksik nekrotizan faktör), sideroforlar (aerobactin sistemi) ve kapsüler polisakkarit (grup II kapsüller) bulunur. Genetik mobil elementler, virülans faktörlerinden ve toksinlerin genlerinden sorumludur ve patogenez için

gerekli olan kolonizasyon faktörleri, plazmitlerde bulunabilir Mesane epitelyumu, bakteriyel enfeksiyonlara karşı koymak için idrar akışı ve antimikrobiyal maddelerin salgılanmasını içeren çok yönlü bir dizi konakçı savunma gösterir. (Terlizzi ve ark 2017). İYE patogenezinde kritik rol oynayan çeşitli virülans faktörleri Şekil 1.2'de gösterilmiştir. Bu bileşenlerin tümü yeni ilaç ve aşıların geliştirilmesi için hedef olabilecek yapılardır (Klemm ve ark 2010, Werneburg ve ark 2015, O'Brien ve ark 2016, Terlizzi ve ark 2017).



Şekil 1.2. *E. coli*' de bulunan bazı adezin ve hareket yapıları (Terlizzi ve ark 2017)

Lipopolisakkarit tabaka (LPS), bir oligosakkarit çekirdeğine astarlanmış yağ asitlerinden oluşan amfipatik özelliklere sahip moleküllerdir ve bunlar da genellikle O antijeni olarak adlandırılan uzun bir polisakarit zincirine bağlanırlar (Simpson ve ark 2015, Terlizzi ve ark 2017). LPS yapısal bileşenleri ve mesaneleri akut olarak kolonize etme, rezervuarlar oluşturma gibi doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık tepkilerini tetiklemek de dahil olmak üzere UPEC yaşam döngüsünün çeşitli yönlerine aracılık eder (Aguiniga ve ark 2016, Terlizzi ve ark 2017). LPS, hidrofobik antibiyotiklere karşı direnç sağlar ve hücre yüzeyindeki LPS miktarı azaldığında hidrofobik toksik

moleküllere (safra tuzları ve bazı antibiyotikler gibi) aşırı duyarlılık oluşur (Zhang ve ark 2013, Terlizzi ve ark 2017).

UPEC'de *fim* operonu, tip 1 pili (mannoz duyarlı bir hemaglütinasyonu ifade eder) kodlarken *pap* operon P- veya Pap-pili (P-kan grubu antijenindeki digalaktosid ünitesi ile etkileşime girebilen) kodlarlar. UPEC klinik izolatlarında *fim* operon yapısal olmasına rağmen, *pap* ise diğer varsayılan virülans belirleyicilerinden de sorumlu olan bir PAI'nin parçasıdır. Genel olarak, her iki pili tipi, pilus sapını ve distal uçta birkaç küçük alt birim proteini sağlayan büyük bir pilus protein alt biriminden oluşan heteropolimerik bir yapı gösterirler ve PapG ve FimH, gerçek adezinleri temsil ederler. PapG ve FimH iki alandan oluşur, birincisi kopolimerizasyona izin veren bir pilin bölgesidir; ikincisi ise karbonhidratları bağlayabilen bir lektin bölgesidir (Kline ve ark 2009, Terlizzi ve ark 2017). 1000'den fazla FimA kopyası tip 1 pilus çubuğunun ana gövdesini oluştururken, distal ucunda yapışmayı sağlayan FimH ve ardından FimG ve FimF adaptör alt birimlerinin tek kopyalarını içerir (Busch ve Waksman 2012). Mesane epitelinde bulunan manosillenmiş proteinler Rho GTPases (Rac1) aracılı konak aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesine bağımlı bir şekilde FimH'ye bağlanır (Eto ve ark 2007, Terlizzi ve ark 2017). Bu durum nihayetinde bakteri istilasından dolayı sistit gelişimine yol açar (Şekil 1.2) (Hahn ve ark 2002, Terlizzi ve ark 2017).

İki farklı şekilde düzenlenmiş (fibrillum ucu ve pilus çubuğu) altı farklı alt birim P pilusunu oluşturur. Distal uçta, fibrillum ucu bir PapG adezini ve onları takiben PapF ve PapE alt birimlerinden oluşur. Pilus çubuğu, PapA alt biriminin 1.000'den fazla kopyasıyla yapılır. Adaptör alt birimi PapK, yukarıdaki alt birimleri PapA çubuğuna bağlar (Şekil-1.2) (Busch ve Waksman 2012)

Curli, hücreden alt birimleri çözünebilir monomerik proteinler olarak salgılayan ve amiloid fibrillerin tipik yapısına ve fiziksel özelliklerine sahip olan bakteriyel yüzey uzantılarıdır. Bu amiloid fibrillerin, bazı insan dejeneratif hastalıklarında ortaya çıktığı bilinmektedir. Bakteriyel amiloidler biyofilm oluşumunu kolaylaştırabilir (Goyal ve ark 2014). UPEC'de, curli oluşumu operon *csg* DEFG'de kodlanan proteinler tarafından koordine edilir. Operon proteinleri CsgE, CsgF ve CsgG; CsgA salgılanmasını kolaylaştırmak için gereklidir. CsgB ise CsgA alt

kıvrımlarını kıvrık liflere dönüştürür (Şekil-1.2) (Chapman ve ark 2002, Barnhart ve Chapman 2006).

Pili, UPEC'nin idrar yolu mukozasına ilk bağlanmasında yer alırken, UPEC çok sayıda diğer afimbrial adezini hazırlamaktadır. Aslında adezin TosA, idrar yolu izolatlarının yaklaşık %30'unda bulunur ve İYE sırasında eksprese edilir (Vigil ve ark 2011). Bir başka adezin olan FdeC'nin fare enfeksiyon modelinde mesane ve böbreklerin kolonizasyonunda rol oynadığı belirlenmiştir (Nesta ve ark 2012). Buna karşılık demirle düzenlenmiş adezin Iha, mesane epitel hücrelerine uyum sürecine aracılık eder (Johnson ve ark 2005).

Ayrıca akut, asemptomatik veya tekrarlayan İYE'leri olan kadınlardan izole edilen UPEC'nin büyük çoğunluğu, flagellum aracılı hareketin varlığını gösterir (Wright ve ark 2005). Flagella (Şekil 1.2), bazı EPEC suşlarına (Giron ve ark 2002) yapışkan ve invaziv özellikler kazandıran ve biyofilmlerin dinamiğinde anahtar rol oynayan yapılardır (Pratt ve Kolter 1998). Son zamanlarda biyofilm oluşumu sırasında kamçıların, büyüme fazı sırasında gen ekspresyonu ve regülasyonu ile gösterildiği gibi yapışma, olgunlaşma ve dağılma gibi farklı roller oynadığı bildirilmiştir (Nakamura ve ark 2016).

Öte yandan, UPEC toksinleri enfeksiyon sırasında farklı patojenetik roller oynar. Böbrek hasarı ve yaralanma ile ilişkili olduğu belirlenen α-hemolizinin renal tübüler epitel hücrelerinde Ca^{+2} salınımlarını indükler. Böylece böbrek ve üreter parankimasının, normal idrar akışının bozulmasından kaynaklı olarak yükselmesine ve kolonize olmasına neden olur. (Nagamatsu ve ark 2015).

UPEC toksinleri, adezinler, enzimler ve LPS gibi protein olmayan antijenler, çözünür moleküller olarak salınmaz; aksine, büyümenin tüm aşamalarında Gram-negatif bakterilerin yüzeyinden tomurcuklanan dış zar vezikülleri ile ilişkilidir (Ellis ve Kuehn 2010). Membran veziküllerinin oluşumu bakteriyel toksinleri korumanın akıllıca bir yolu ve bunları konakçı hücreye vermek için etkili bir sistem olarak kabul edilir (Wiles ve ark 2008).

Demir alımı, demir sınırlı bir ortam olan üriner sistem gibi bölgelerde UPEC'nin hayatta kalması için kritik bir gerekliliktir (Skaar 2010). Bu bağlamda sideroforlar, ferrik demiri (Fe^{+3}) temizlemek için UPEC suşları tarafından üretilen

küçük moleküllü demir şelatörleridir. Bu nedenle UPEC, yersiniabaktin, salmoşelin ve aerobaktin'i eksprese eder. Siderofor reseptörleri, demir alımını arttırmak için hücre yüzeyinde demirin bağlanmasına ve şelatlanmasına izin veren yüksek afiniteli bir demir toplama sistemi olan TonB sitoplazmik membran lokalize kompleksini gereksinir (O'Brien ve ark 2016).

Son olarak, kolonizasyonla ilişkili başka UPEC faktörleri, *iki bileşenli sinyalleme* sistemlerinin (TCS'ler) aracılık ettiği metabolik yolların düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir. TCS'ler, bakterilerin quarum algılama sinyalleri, besinler, antibiyotikler de dahil olmak üzere çok çeşitli çevresel uyaranları algıladığı ve bunlara tepki verdiği ana sinyal iletim yollarıdır. TCS'ler, zara bağlı bir sensör olan histidin kinaz (HK) ve gen ekspresyonunu düzenleyerek işlev gören bir sitoplazmik tepki düzenleyicisinden (RR) oluşur (Stock ve ark 2000). UTI patogenezinde yer alan UPEC ile ilişkili TCS'ler arasında, BarA / UvrY sisteminin glikolitik ve glukoneojenik yollar arasındaki geçişi düzenlediği açıklanmıştır (Tomenius ve ark 2006). evrS / EvgA ve PhoQ / PhoP sistemleri asit direncinden sorumludur (Eguchi ve ark 2011). KguS / KguR fonksiyonu ise a-ketoglutarat kullanımının kontrolünde görev alır. Bu bütün bu mekanizmalar UPEC'in idrar yollarına adaptasyonunu kolaylaştırırlar (Cai ve ark 2013).

Antimikrobiyal Direnç Ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL)

Antibiyotikler, mikroorganizmalar tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmaların büyümesini ve hayatta kalmasını engelleyebilen kimyasal olarak sentezlenmiş veya yarı sentezlenmiş analog bileşiklerin bir sekonder metabolit sınıfıdır (Demain ve Sanchez 2009). Antibiyotikler, insan bulaşıcı hastalıklarının tedavisinde terapötik ajanlar olarak çok faydalıdır, ayrıca günümüzde antibiyotikler hayvancılık endüstrisinde ve su ürünleri yetiştiriciliğinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Ben ve ark 2019). Yüksek doz ve çok sayıda antibiyotik kullanımı, insan ve doğal mikrobiyal sistem üzerinde güçlü bir seçim baskısı oluşturabilir (Qiao ve ark 2018). Mikrobiyal sistemde antibiyotiklerin ortaya çıkması; normalde duyarlı bakterilerde genetik veya mutasyonel değişikliklere yol açabilir, bu da bakterilerin antibiyotiğe dirençli genler taşıyan antibiyotiğe dirençli bakteriler olarak hayatta kalmasını ve daha da çoğalmasını sağlar (Martinez 2009). Plazmitler, integronlar ve profajlar da dahil olmak üzere mobil genetik elementler (Martinez ve ark 2015);

antibiyotiğe dirençli genlerin, toplu olarak yatay gen transferi olarak adlandırılan transformasyon, konjugasyon veya transdüksiyon yoluyla genetik rekombinasyonunun yayılmasını daha da arttıracaktır (Vikesland ve ark 2017). Antibiyotik direnci, yaygın ve artan antibiyotik kullanımından kaynaklanmaktadır (Holvoet ve ark 2013, Blaustein ve ark 2016, Vital ve ark 2018). Antibiyotik direnci gün geçtikçe artmakla beraber küresel bir sağlık kaygısı haline gelmektedir, bu durum mevcut tedavi seçeneklerini sınırlar. Bundan dolayı daha yüksek tedavi ve hastaneye yatış maliyetleri ile artan mortalite ve morbidite oranlarına neden olur (Huddleston 2014, Vital ve ark 2018).

Günümüzde, ekosistemler ve insan sağlığı; antibiyotikler, antibiyotiğe dirençli genler ve antibiyotiğe dirençli bakteriler tarafından harekete geçirilen, endişe duyulan kimyasal ve biyolojik kontaminantların çevresel oluşumu tarafından tehdit edilmektedir. Antibiyotiğe dirençli bakteriler ve antibiyotiğe dirençli genler çevrede, gıda zincirinde ve hatta içme suyunda bulunabilir. Bu durum çeşitli uluslararası kuruluşlar ve Avrupa Birliği (AB) tarafından ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir (Rizzo ve ark 2013, Berendonk ve ark 2015). Son zamanlarda, antimikrobiyal direncin çevresel boyutu, Birleşmiş Milletler Çevresine göre ortaya çıkan altı çevresel endişe sorunundan biri olarak belirlenmiştir (Iakovides ve ark 2019).

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasını açan ve antibiyotiği inaktive eden enzimlerdir. Gram negatif bakterilerdeki ilk plazmit aracılı beta-laktamaz 1960'larda Yunanistan'da keşfedilmiş ve izole edildiği hastadan sonra TEM olarak adlandırılmıştır (Temoniera) (Bradford 2001). Daha sonra yakından ilişkili bir enzim olan TEM-2 keşfedilmiştir. Biyokimyasal özellikleri yaygın olan TEM-1 ile benzer olmasına rağmen, enzimin izoelektrik noktasında ortaya çıkan bir değişiklik ile tek bir amino asit ile farklılık göstermiştir. Bu iki enzim, *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus influenzae* ve *Neisseria gonorrhoeae* dahil gram negatif bakterilerde en yaygın plazmit aracılı beta-laktamazlardır. TEM-1 ve TEM-2 penisilinleri ve sefalotin veya sefazolin gibi dar spektrumlu sefalosporinleri hidrolize eder. Bununla birlikte, sefotaksim, seftazidim, seftriakson veya sefepim gibi bir oksimino yan zinciri olan yüksek kuşak sefalosporinlere karşı etkili değildirler. Sonuç olarak, bu antibiyotikler ilk kez tanıtıldığında, başka türlü dirençli bakterilere karşı

etkili oldular. İlişkili fakat daha az yaygın bir enzime SHV adı verilmiştir, çünkü sülfhidril reaktifleri substrat spesifitesi üzerinde değişken bir etkiye sahiptir.

Sefotaksimin Avrupa'da klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra, Almanya'da oksimino-sefalosporinlere (örneğin sefotaksim, seftazidim ve seftriakson) transfer edilebilir dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşları keşfedilmiştir (Kliebe ve ark 1985). Sorumlu enzim SHV ile ilgili olduğundan dolayı SHV-2 olarak adlandırılmıştır. TEM ile ilişkili geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) 1984'te Fransa'da ve 1988'de Amerika Birleşik Devletleri'nde keşfedilmiştir.

GSBL ailesi heterojendir. SHV ve TEM tipi GSBL'ler, daha dar spektrum enzimlerinin yeni oksimino-beta-laktamlara saldırmasına izin veren amino asit değişimleri ile ortaya çıkmıştır. CTX-M ailesinin üyeleri olan diğerleri, başlangıçta kromozomal genler tarafından belirlenen geniş spektrumlu beta-laktamazların plazmit edinimini göstermektedir. GSBL'ler, farklı oksimino-beta-laktam substratlarına karşı aktivite bakımından farklılık gösterir, ancak sefamisinlere (sefoksitin, sefotetan ve sefmetazol) ve karbapenemlere (imipenem, meropenem, doripenem ve ertapenem) saldıramaz. Bunlar ayrıca genel olarak klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdırlar ve sonuçta bu direnç mekanizmasının varlığını test etmek için bir beta-laktam substratı ile birleştirilebilirler. GSBL'ler sadece gram negatif organizmalarda, özellikle *Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca* ve *Escherichia coli'*de olduğu kadar *Acinetobacter, Burkholderia, Citrobacter, Enterobacter, Morganella, Proteus, Pseudomonas, Salmonella, Serratia* ve *Shigella* spp. gibi mikroorganizmalarda da bulunur. GSBL üreten *E. coli*'ye bağlı enfeksiyon dünyadaki hastanelerde yaygınlaşmıştır (Paterson ve Bonomo 2005). GSBL'ye bağlı toplumla ilişkili enfeksiyon da Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da önemli bir klinik sorun olarak kabul edilmiştir. Ek olarak, GSBL üreten *E. coli*'ye bağlı toplum kökenli enfeksiyonun önemli bir kısmı, sağlık hizmeti ile ilişkili herhangi bir risk faktörü olmayan hastalar arasında gözlenmiştir (Doi ve ark 2013).

GSBL ÇEŞİTLERİ

TEM beta-laktamazlar: Enzimin aktif bölgesi etrafındaki GSBL fenotip kümesinden sorumlu amino asit değişimleri ve yapılandırmasını değiştirerek oksimino-beta-laktam substratlarına erişime izin verir. 104, 164, 238 ve 240.

pozisyonlardaki tek amino asit değişimleri GSBL fenotipini üretir, ancak en geniş spektruma sahip GSBL'ler genellikle tek bir amino asit değişiminden daha fazlasına sahiptir. Farklı değişiklik kombinasyonlarına dayanarak, şu anda 220'den fazla TEM tipi enzim açıklanmıştır. Hepsi GSBL gibi davranmaz ve bazıları TEM-1 ve TEM-2 gibi sadece penisilinler ve dar spektrumlu sefalosporinler gibi beta-laktamları hidrolize eder. Bununla birlikte, çoğu GSBL'dir, bazıları beta-laktamaz inhibitörlerine dirençlidir ve birkaçı hem GSBL'lere hem de inhibitörlere dirençlidir. TEM-10, TEM-12 ve TEM-26, Amerika Birleşik Devletleri'nde en yaygın olanlarıdır (Jacoby ve Munoz-Price 2005).

SHV beta-laktamazlar: Bu ailede GSBL'lerin aktif bölge çevresinde, en yaygın olarak 238 veya 238 ve 240 pozisyonlarında amino asit değişiklikleri vardır. Dünya çapında yaygın olmakla birlikte 190'dan fazla SHV çeşidi bilinmektedir. SHV-2, SHV-5, SHV-7 ve SHV-12 en yaygın olanları arasındadır (Castanheira ve ark 2013). Tüm SHV'ler GSBL değildir ve SHV-1 gibi bazıları sadece penisilinler ve dar spektrumlu sefalosporinler gibi beta-laktamları hidrolize eder (Jacoby ve Munoz-Price 2005).

CTX-M beta-laktamazlar: Bu enzimler sefotaksime karşı diğer oksimino-beta-laktam substratlarından (Seftazidim, seftriakson veya sefepim) daha güçlü aktiviteleri nedeniyle adlandırılmıştır. İsimlerine rağmen, az bir kısmı seftazidime karşı sefotaksime göre daha aktiftir. Mutasyondan daha ziyade, *Kluyvera* türlerinin kromozomunda normal olarak bulunan beta-laktamaz genlerinin plazmit ile kazanımına örnektir. 160'tan fazla CTX-M enzimi tarif edilmiştir. *Salmonella* da dahil olmak üzere birçok farklı *Enterobacteriaceae*'de bulunmuştur ve dünya çapında en yaygın GSBL tipidir (Canton ve Coque 2006). CTX-M enzimlerinin çoğalması, CTX-M genlerinin replikonlar ve hücreden hücreye hızlı ve etkili yayılmaya aracılık eden mobil genetik elementler tarafından yakalanması ve yayılmasından kaynaklanmaktadır (D'Andrea ve ark 2013).

OXA beta-laktamazlar: OXA beta-laktamazlar uzun zamandır daha az yaygın olmakla birlikte oksasilini ve ilgili anti-stafilokok penisilinleri hidrolize edebilen plazmid aracılı beta-laktamaz çeşidi olarak kabul edilmiştir. OXA enzimlerindeki amino asit değişimleri de GSBL fenotipini verebilir. OXA tipi GSBL'ler esas olarak Türkiye ve Fransa'dan *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında

bulunmuştur. Karbapenemaz aktivitesine sahip OXA beta-laktamazlar da tarif edilmiştir. OXA enzimlerinin tamamı GSBL değildir ve bazıları sadece penisilinler, antistafilokokal penisilinler ve dar spektrumlu sefalosporinler gibi beta-laktamları hidrolize eder (Jacoby ve Munoz-Price 2005).

Diğer GSBL enzimleri: PER enzimleri ile TEM ve SHV tipi GSBL'ler DNA baz dizileri bakımından %25-27 oranında homoloji gösterirler. İlk olarak Fransa'da bir Türk hastadan izole edilen bir *P. aeruginosa* suşunda saptanmıştır. PER-1 enzimi penisilin ve sefasporinleri hidrolize eder ve klavulanik asit ile inhibe olur (Dağlar ve Öngüt 2012).

VEB-1 enzimi; PER-1 ve PER-2 enzimleriyle %38 oranında homoloji gösterir. Seftazidim, sefotaksim ve aztreonama yüksek düzeyde direnç gösterirler ve klavulanik asit ile inhibe olurlar. VEB-1 ilk olarak Vietnam'da bir *E. coli* suşunda saptanmıştır (Dağlar ve Öngüt 2012).

GES-1 ilk olarak Fransa'da *K. pneumoniae* suşunda saptanmıştır. Bu PER, VEB ve GES gibi enzimler plazmit aracılı GSBL'lerdir ve nadirdir ve esas olarak *P. aeruginosa*'da ve sınırlı sayıda coğrafi bölgede bulunmuştur (Endimiani ve ark 2006). Bu GSBL'ler aynı zamanda sefalosporinleri ve monobaktamları da bozar. *Enterobacteriaceae*'de bulunan diğer nadir GSBL'ler BES, SFO ve TLA'dır (Naas ve ark 2008).

Ülkemizde ve dünyada *E. coli* suşlarının GSBL enzimlerinin ve antibiyotik direnç seviyelerinin tespiti ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır.

Yapılan bir çalışmada *E. coli* suşlarının, amoksisilin /klavulanik aside direnç oranı %42,1'e karşılık %41,4 olarak rapor edilmiştir. Diğer çalışmalarda GSBL pozitif suşlarda amoksisilin / klavulanik aside direnç oranı daha yüksek olarak belirlenmişti (Deveci ve ark 2010, Bayram ve ark 2011, Gündem ve ark 2013, İnci ve ark 2013).

Poovendran ve ark (2012), 100 UPEC suşunun 12 antibiyotiğe karşı direnç oranlarını amikasin, piperasilin / tazobaktam, kotrimoksazol, amoksisilin, norfloksasin, ampisilin ve tobramisin için sırasıyla %90, %89, %88, %86, %73, %71 ve %58 olarak belirlemişlerdir.

Pakistan'da Ali ve ark (2014) tarafından yapılan çalışmada 250 üropatojenik *E. coli* suşunun antibiyotik direnç oranları tazosin (%1,25), amikasin (%1,8), tigesiklin (%2,5) ve nitrofurantoin (%3,75) olarak belirlenmiştir. Sefalotine (%70), sefotaksime (%58,5), seftazidim (%57,5), sefepim (%55), sefuroksim ve sefeksim (%53,75), siprofloksasine karşı direnç %57,5, norfloksasin için %52,5 ve sparfloksasin %55 olarak belirlemişlerdir. Meropenem'e (MEM) karşı direnç gözlenmemiştir.

Ghadiri ve ark (2014) idrar yolu enfeksiyonlarından izole *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç oranlarını ve GSBL varlığını değerlendirmişlerdir. Suşların daha çok meropenem (%90,4) ve imipenem (%90), ardından amikasin (%89) ve gentamisin (%84,7) ile duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, *E. coli* izolatlarının 67'sinin (%22,3) GSBL pozitif ve 21'inin (%7) MBL pozitif olduğunu tespit edilmiştir.

Mbanga ve Mudzana (2014) çalışmalarında 40 UPEC suşunun gentamisin (%82,5) ve nitrofurantoine (%62,5) yüksek duyarlılık; ampisilin (%90) ve tetrasikline (%75) yüksek dirençli olduğunu gözlemişlerdir. İzolatların %65'inde çoklu ilaç direnci göstermiştir.

Kateterler ile ilgili idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen UPEC suşlarının antibiyotik direnç ve GSBL üretimlerinin araştırıldığı bir çalışmada Taheri ve ark (2016), UPEC izolatlarının siprofloksasin (%80) ve üçüncü kuşak sefalosporinlere (%72,5) karşı çok yüksek direnç gösterdiğini; izolatların %70'inin GSBL üreten ve %90'ı çok sayıda ilaca dirençli (MDR) suş olduğunu tespit etmişlerdir. Bu arada, direnç genlerinin sıklığı: izolatlarda *ctxM, aacIV, sul1*, *shv* ve *qnrA* sırasıyla %95, %82,5, %77,5, %72,5 ve %45 olarak belirlenmiştir.

Paris'te yapılan bir çalışmada toplum kökenli idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz üretim prevalansı %4,2 olarak belirlenmiştir. GSBL üreten *E. coli* suşlarının amoksisilin, fluorokinolonlar, nitrofurantoin ve fosfomisin direnci sırasıyla %100, %80, <%5 ve <%10 olarak tespit edilmiştir (Chervet ve ark 2018).

Onanuga ve ark (2019) yaptıkları çalışmalarında idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen 25 *E. coli* suşunun antibiyotik duyarlılıkları, GSBL genleri ile yaptıkları çalışmalarında; izolatların ko-trimoksazole (%76), nalidiksik aside (%68), siprofloksasine (%60), gentamisine (%44) ve sefotaksime (%20) direnç gösterdiğini ancak sefoperazon / sulbaktam, amikasin, nitrofurantoin, kolistin ve karbapenemlere duyarlı olduğu bildirilmiştir. Fenotipik olarak 6 izolatta GSBL varlığı saptanırken, genotipik olarak blaTEM 22 (%88) blaCTX-M-15 16 (%64), blaSHV 7 (%28) ve blaOXA- 8 (%32) izolatta saptanmıştır.

İki yüz *E. coli* izolatının incelendiği bir çalışmada izolatların 70'inin (%35) geniş spektrumlu beta-laktamaz üretimi için pozitif olduğu doğrulandı. Tüm izolatlar ampisilin, tetrasiklin ve kloramfenikole dirençliyken, 70 izolatın 68'i (%97,14) imipeneme duyarlı olduğu, PZR yöntemiyle 70 izolatın 66'sında (%94) blaTEM, blaSHV ve blaCTX-M genlerinin varlığı tespi. Tespit edilen GSBL bla genleri blaCTX-M (n = 26; %37,14), blaTEM (n=7; %10), blaSHV (n=2; %2,86), blaCTX-M / TEM (n=7; %10), blaCTX-M / SHV (n=14; %20) ve blaCTX-M / TEM / SHV (n=10; %14,29) olarak belirlenmiştir. İzolatların 4'ünde (%5,71) üç bla geni tespit edilmediği vurgulanmıştır (Nwafia ve ark 2019).

Yirmi *K. pneumoniae* ve 48 *E. coli* izolatının incelendiği bir çalışmada, antimikrobiyal duyarlılık profili ve β-laktamaz genlerini (yani blaTEM, blaSHV ve blaCTX-M) tespit etmek için polimeraz zincir reaksiyonu yapılmıştır. Multipleks PZR yönteminden edilen bulgulara göre, GSBL üreten *E. coli* suşlarında %81 blaTEM, %16,2 blaSHV ve %32,4 blaCTX-M genlerinin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarının çoğunun çoklu ilaç direncine sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Pishtiwan ve Khadija 2019).

Mpelle ve ark (2019) izole ettikleri 89 *E. coli* suşunun antibiyotik direncini, GSBL varlığını ve PZR yöntemiyle GSBL kodlayan genleri (TEM, SHV, CTX-M-1 ve OXA-48) inceledikleri çalışmalarında izole ettikleri suşların 43'ü GSBL pozitif olarak belirlenmiştir. Bu suşlardaki blaTEM, blaCTX-M-1, blaSHV ve blaOXA-48 genleri sırasıyla %74,42, %23,26, %9,30 ve %6,97 olarak tespit edilmiştir. GSBL pozitif suşların imipenem hariç diğer antibiyotiklere dirençli olduğu belirtilmiştir.

Alkhudhairy ve Alshammari (2019) çalışmalarında idrar yolu enfeksiyonlarında izole ettikleri 76 *E. coli* suşunun antibiyotik duyarlılıklarını, GSBL üretimini ve Multiplex PZR yöntemiyle GSBL genlerini incelemişlerdir. Araştırıcılar suşların 18'inin GSBL pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Tüm GSBL pozitif suşların, çalışılan β-laktam antibiyotiklerin çoğuna 18 (%100) dirençli, ancak yine de Fosfomisin, Levofloksasin ve Karbapenem'e karşı yüksek duyarlı 18 (%100) olduğunu belirlemişlerdir. Multiplex PZR sonucu 7 (%9,2) izolatın GSBL üreticisi olduğu ve 5 (%71,4) izolatın birden fazla tip GSBL geni taşıdığı bulunmuş, iki (%28,6) izolat sadece blaCTX-M geni taşıdığı ve blaCTX-M geninin baskın olduğu ve tüm izolatlarda bulunduğu söylenmiştir. 3 (%42,8) izolatta blaCTX-M ve blaSHV genleri, 2 (%28,6) izolatta ise blaCTX-M ve blaTEM genleri saptanmıştır.

Biyofilm tabaka bakterilerin antibakteriyel ajanlardan ve vücudun savunma sistemlerinden korunmasını sağlayan ve yüzeye sıkıca tutunmalarına olanak veren ekstraselüler polimerlerden oluşan bir yapıdır (Donlan ve Costerton 2002). Biyofilm içindeki hücre iletişimi, bakterilerin ortaya çıkan enfeksiyonları arttırmasını ve yoğunlaştırmasını sağlayan kilit biyokimyasal oyuncuları modüle edebilen çekirdek sensörleri nedeniyle oluşur. Biyofilm oluşumu, hücrelerin yüzeylere teması ile başlar (Percival ve ark 2015). Biyofilm oluşumu, çeşitli *E. coli* enfeksiyonlarının oluşumuna katkıda bulunur ve yok edilmelerini zorlaştırdığı gibi; geleneksel antibiyotiklerin penetrasyonunu zorlaştırır ve hücreleri antibiyotiklere daha az duyarlı hale getirir (Danese ve ark 2000, Ito ve ark 2009, Mittal ve ark 2015). Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları için ana etken madde olmasının yanı sıra, *E. coli* biyofilmi, tıbbi cihazlarla ilgili bulaşıcılıktan kalıcı olarak da sorumludur. UPEC tarafından yapılan biyofilm oluşumu idrar yolundaki bakteriyel hücrelerin uzun süreli kalıcılığı için belirleyici bir faktör olarak kabul edilir ve İYE'lerle ilişkili enflamatuar reaksiyonlara neden olur (Boll ve ark 2013, Peirano ve ark 2013). Ayrıca, biyofilm ile ilişkili suşlar arasında ilaç direncinin artması, tedavi zorluğunu önemli ölçüde arttırabilir.

Biyofilm oluşumu, yüzeye ilk bakteriyel yapışmayı, ardından hücre toplanmasına neden olan hücre dışı polimerik matrisin çoğalmasını ve üretimini içerir (Feraco ve ark 2016). UPEC suşları, katı yüzeylere tutunma ve biyofilm oluşumu için çeşitli adezinler üretebilir. Bakteriyel yapışmayı ve biyofilm oluşumunu teşvik edebilen Tip 1 fimbrialar, konakçı hücre yüzeyinin glikoprotein molekülleri üzerinde

doğal olarak sunulan mannoz-oligosakkaritleri tanır. Tip 1 fimbrialar, *fim* gen kümesi tarafından kodlanır ve *Fim*F, *Fim*G yardımcı proteinleri ve yapışma proteini *Fim*H ile ilişkili büyük bir protein olan *Fim*A'dan oluşur. P fimbrialar UPEC suşları tarafından üretilir ve bakterilerin böbreği kolonize etme ve piyelonefrite neden olma kabiliyeti ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. *Pap* gen kümesi, fimbria çubuğunun (*Pap*A) ana bileşenini kodlayan, adaptör alt birimlerini kodlayan papEF'den ve PapG'nin bir terminalinden oluşan 11 gen içerir (Emody ve ark 2003). *bma*E tarafından kodlanan M fimbria, kan grubu M'ye özgü glikoprotein A belirleyicilerini tanır ve İYE'lerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. S fimbriaları, UPEC *sfa* operonu tarafından kodlanan mannoz dirençli adezyonlardır. S fimbria'nın varlığı ayrıca *E. coli* suşlarının patojenisitesi ile de ilişkilidir. F1C fimbria, hemaglütinasyon yapmayan bir yapışma faktörü olarak tanımlanmıştır ve patojenik *E. coli* suşları tarafından eksprese edilir. F1C fimbria'nın biyogenezi için sekiz genlik (odak) bir küme gereklidir (Zamani ve Salehzadeh 2018).

Epidemiyolojik çalışmalar, bu yapışma faktörlerinin İYE ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Emody ve ark 2003).

BİYOFİLM OLUŞUMU

Biyofilm oluşumunda dört ana adım vardır: (1) ilk yapışma veya bağlanma (geri dönüşümlü); (2) biyofilm yapısının erken gelişimi (geri döndürülemez); (3) geliştirilen biyofilmin olgunlaşması ve (4) biyofilmden hücrelerin planktonik duruma dönmesi için dispersiyonu.

İlk yapışma

Biyofilm, uygun besin koşullarına sahip herhangi bir uygun ortamda oluşabilir. Hücrelerin tutturulması için yüzeyler metal, cam, plastik, tıbbi implantlar, paslanmaz çelik veya epitel hücreleri, insan derisi ve hayvan dokuları gibi biyotik ve abiyotik olabilir. Ortam sıcaklığı, pH ve iyonik kuvvet gibi çevresel koşulların yanı sıra, sıvı ortamda biyofilm oluşumunu engelleyen itici elektrostatik ve hidrodinamik kuvvetler vardır. Bu kuvvetlerin üstesinden gelmeye yardımcı olan peritrik flagella, *E. coli*'nin aktif hareketliliği için bir mekanizma görevi görür ve *E. coli* ile yüzey arasındaki etkileşimi arttırır, böylece yapışma için ilk hücre-yüzey teması sağlar. Motilite yapışma için önemli bir faktördür, ancak hareketsiz bakteriler de güçlü yapışma faktörlerinin ifadesi ile yüzeye yapışabilir (Beloin ve ark 2008).

Biyofilmin erken gelişimi

Biyofilm gelişiminin erken safhasında yüzeye tutunma, yapışan *E. coli* hücrelerini sabit hale getirdiğinden, kamçı sentezi baskılanır. Siklik-diguanylik asit (c-di-GMP) gibi birkaç küçük molekül, planktonikten sesil duruma geçişten sorumludur. C-di-GMP konsantrasyonu motilite durumunda düşüktür ve biyofilm oluşumu sırasında yükselir. Tip 1 fimbria ve curli fimbria gibi yapışkan organeller, *E. coli*'nin yüzeye geri dönüşümsüz yapışmasında önemli bir rol oynar (Wood 2009). *E. coli*'de bulunan tip 1 fimbria veya pili, abiyotik yüzeylere ilk bağlanma için önemlidir ve *fim* geni tarafından kodlanır. Bu genlerin ekspresyonu, yapışma ve biyofilmin ilk gelişimi ile indüklenir. *csg* geni tarafından kodlanan Curli fimbriae, hücre dışı matrisin proteinlerine bağlanan hücre dışı yapılardır. Ayrıca, hücre-yüzey etkileşimini arttırarak abiyotik yüzeylere yapışma sağlar ve daha sonra hücre-hücre iletişimini kolaylaştırırlar (Beloin ve ark 2008).

Olgunlaşma

Hücreler yüzeye sıkıca yapıştıktan sonra, hücre-hücre etkileşimi yoluyla toplanmaya başlarlar. Olgunlaşma evresindeki bakteriler ayrıca biyofilm için üç boyutlu bir yapı sağlayan hücre dışı matrisi de üretir. Ototransportörler (hücre-hücre etkileşimi için) ve EPS (matris oluşumu için) biyofilm olgunlaşması için çok önemlidir.

i) Ototransportörler: Dış membrana translokasyonları için yardımcı proteinlerin yardımını gerektirmeyen proteinlere ototransporter proteinleri denir. Antijen 43 (Ag43), *flu* geni tarafından kodlanan anahtar ototransporterdir. Hücreden hücreye yapışmayı teşvik eder, böylece otomatik toplanma ve üç boyutlu gelişimi kolaylaştırır. Taşıyıcı proteinler (AidA ve TibA), *E. coli*'nin virülan suşlarıyla ilişkilidir ve agregasyona neden olur ve biyofilm oluşumunu teşvik eder (Vogeleer ve ark 2014, Sharma ve ark 2016).

ii) Hücre dışı polimerik maddeler-(extracellular polymeric substances-EPS): HPM, biyofilmin planktonik bakterilerden ayırt edilen karakteristik özelliğidir. HPM matrisi, bakteriyel hücrelerin yüzeye tutturulduğu ve hücre-hücre ve hücre-yüzey etkileşimlerini kolaylaştıran ortamdır. Biyofilm hücrelerine destek sağlar ve biyofilme üç boyutlu bir mimari verir, böylece koruyucu ve yapısal bir rol sağlar. Su, HPM'nin

en önemli bileşenlerinden biri olup, ekstrapolimerik polimerler, proteinler, nükleik asitler, besinler, lipitler ve diğer metabolitlerle birlikte bulunur. Matriste salgılanan polisakkaritler, biyofilm için şekil ve yapısal destek sağlamaktan sorumludur. *E. coli* biyofilm üç ana ekzopolisakkarit içerir: beta-1,6-N-asetil-D-glukozamin polimeri (PGA), selüloz ve kolanik asit, ancak lipopolisakkarit ve kapsüller *E. coli* biyofilminin oluşumunda da önemli faktörlerdir. PGA, hücreden hücreye yapışmaya ve yüzeylere bağlanmaya aracılık ederek biyofilm oluşumuna yardımcı olur. Ayrıca *E. coli* biyofilmini stabilize eden bir yapışma görevi görür. *E. coli pgaABCD* operon, PGA polimerinin sentezine, salınımına ve lokalizasyonuna katılan PgaC glikosiltransferaz dahil proteinleri kodlar. Selüloz sentezi katı biyofilm oluşumundan sorumludur. Kolanik asit, bakteri hücreleri çevresinde bir kapsül oluşturur ve bunları belirli çevresel koşullardan korur, ancak Antigen 43 ve AidA'yı maskelediği için biyofilm oluşumu üzerinde de inhibe edici bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Vogeleer ve ark 2014). Matristeki lipopolisakkaritler (LPS O antijeni) ve kapsüler polisakkaritler (polisakkarit K antijeni) gibi diğer bileşenler, bakteriyel hücreler ve çevre arasındaki etkileşimi kolaylaştırarak biyofilm oluşumunda önemli ve dolaylı bir rol oynar. LPS ayrıca hücre yüzeyine maruz kalan adezyon faktörleri ile etkileşerek adezyonda önemli bir rol oynar (Beloin ve ark 2008, Sharma ve ark 2016).

iii) Quarum algılama (Quarum sensing): QA; bağımsız bireysel hücrelerin, bölge içi iletişimi desteklemek için çevreye otoindüktörler veya quormons adı verilen küçük sinyal moleküllerini serbest bıraktığı hücre yoğunluğuna bağlı bir kimyasal sinyalizasyon sistemidir. Bu otomatik indüktörler farklı türler için spesifiktir ve gen ekspresyonunu modüle edebilir (Daniels ve ark 2004). QA, bakteriler tarafından çok hücreli bir organizma gibi davranışlarını ve işlevlerini iletmek ve koordine etmek için kullanılan bir süreçtir ve ayrıca biyofilm oluşumu ve olgunlaşması sırasında gen ekspresyonunu kontrol eder. AI yüksek bir konsantrasyona ulaştığında, virülans faktörlerinin gen ekspresyonunu modüle eden ve motilite, fimbria ve ısıya dayanıksız toksin ekspresyonunu arttıran düzenleyici bir protein ile etkileşime girer. Gram-negatif bakterilerde (AI-1 ve AI-2) iki tip AI tanımlanmıştır. AI-1 molekülleri N-asil-homoserin laktonlardır (AHL) ve AI-2 benzersiz bir furanosil borat diesteridir. AHL otoindüktörleri ortak bir homoserin lakton parçasını paylaşır ve sadece asil gruplarında farklılık gösterir (Sharma ve ark 2016).

iv) Stres direnci genleri: Stres toleransı, patojenik bakterilerin zorlu ortamlarda hayatta kalabilmek için geliştirdiği önemli bir özelliktir. *E. coli* biyofilminin oluşumu sırasında, zorlu ortamlarda biyofilmi koruyan çeşitli stres direnci genleri indüklenir. Hfq proteini, idrar yolunun sert ortamında *E. coli* biyofilmlerinin oluşumuna yardımcı olur. *Ycf*R / *Bhs*A asit, ısı, peroksit ve kadmiyuma dayanıklı biyofilm oluşturan indol üretimini indükler. *ymg*B geni, *E. coli*'nin midenin düşük pH'ından sağ çıkması için asidik direnç veren AriR proteinini (indolden etkilenen asit direnci regülatörü) üretir (Wood 2009). C-di-GMP, curli üretimiyle bağlantılıdır ve bu nedenle c-di-GMP'nin aşırı üretimi, *E. coli* biyofilm üretimini arttırır. Gen *rpo*S, stres tepkisini düzenleyen sigma S faktörünü kodlar. Curli, selüloz, diğer matris bileşenleri için genler ve biyofilmin (örn. C-di-GMP) sentezine ve bozulmasına dahil olan enzimler dahil düzenleyici ve yapısal genlerin ifadesi sigma S faktörüne bağlıdır (Serra ve Hengge 2014).

Dağılım

Bu son aşama, bakterilerin olgun biyofilmden dağılarak ayrılmasını, yani bakterilerin uzak bir bölgeye yerleşebilen ve biyofilm oluşturabilen bir planktonik duruma geçişini içerir. Bazı dış kuvvetler tarafından beslenme seviyelerine ve oksijen tükenmesine bağlı çevresel değişikliklere yanıt olarak biyofilm matrisinin ve QA'nın enzimatik bozulması sonucu ayrılma meydana gelebilir (Soto ve ark 2011).

Sağlık hizmetlerinde biyofilm oluşumu, sağlık sistemi üzerinde önemli bir mali yük getirecek şekilde artan morbidite ve mortalite ile sonuçlandığından kaygı verici bir konudur. Biyofilm bazlı enfeksiyonları kontrol altına almak için geleneksel antibiyotik tedavileri dışındaki yeni stratejilere yüksek talep vardır. Sağlık hizmeti ortamlarında biyofilm oluşumunu kontrol etmek için şu ana kadar kullanılan iki yaklaşım vardır: Birincisi, biyofilm oluşumunun moleküler mekanizmasının anlaşılmasına dayanan biyofilm inhibitörlerinin geliştirilmesi, diğeri ise tıbbi alanda kullanılan biyomalzemelerin değiştirilmesidir. Biyofilm büyümesini sınırlandırmak için etkin ilaç dağıtımı için yapışma önleyici bileşikler, fitokimyasallar, nanomalzemeler gibi alternatif terapötik maddeleri keşfetme ihtiyacını vurgulamaktadır (Sharma ve ark 2016).

Biyofilm ile ilgili yapılan bir çalışmada Tajbakhsh ve ark (2016) idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen 130 *E. coli* izolatının biofilm oluşumunu antibiyotik duyarlılıklarını ve virulans genlerini inceledikleri çalışmalarında, 80 izolatın (%61,53) biyofilm oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Biyofilm oluşturan izolasyonlar arasında en yüksek direnç Ampisiline (%87,5) ve en düşük direnç ise Nitrofurantoin'e (%3,75) karşı saptanmıştır. Güçlü biyofilm oluşturma kabiliyetine sahip izolasyonlarda fimH, pap, sfa ve afa genlerinin sıklığı sırasıyla %93,33, %86,66, %86,66 ve %66,66 olarak bildirilmiştir.

Wang ve ark (2016) 256 *E. coli* suşunun antibiyotik direnci ve biyofilm oluşumunu inceledikleri çalışmalarında, suşların penisilin, aztreonam, rifampisin, kanamisin, klindamisin ve gentamisine karşı yüksek bir ilaç direnci oranı gösterdiğini ve %92,19'unda çok ilaç direnci görüldüğünü tespit etmişlerdir. İzolatların %81,64'ünün biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir. Toplam izolatların %25,39'u güçlü, %31,25'i orta derecede, %28,90'ın ise zayıf biyofilm oluşum kabiliyeti gösterdiği ve %18,36'sının ise biyofilm oluşturamadığı saptanmıştır.

İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının virulans faktörleri, biyofilm oluşturma kabiliyetler ve antibiyotik direncinin incelendiği başka bir çalışmada Kot ve ark (2016), Ampisilin (%55,5) ve tetrasikline (%39,3) olan direnci daha anlamlı bulduklarını belirtmişlerdir. Fim geni, suşların %92,5'inde, Sfa ve pap genleri suşların sırasıyla %53,8 ve %38,7'sinde bulunmuştur. Hly geni, suşların %18,5'inde, Aer geni %52,6'da ve cnf geni ise %12,1'inde saptanırken, afa geni suşların %4,6'sında saptanmıştır.

Toplum kökenli idrar yolu enfeksiyonu (İYE) geçiren hastalardan izole edilen üropatojenik *E. coli* (UPEC) suşları, virülans genlerinin prevalansını, antibiyotik direncini ve suşların O-serogruplarını belirlemek için Paniagua-Contreras ve ark (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, 194 UPEC suşu arasında en sık görülen virülans genleri kpsMT (%92,2) suş, usp (%87,1), irp2 (%79,3), iha (%64,9), fim (%61,3), set (%36), astA (%33,5), pap (%24,7) ve papGII (%21,1) olarak belirlenmiştir. Ek olarak, suşların %97'si çoklu ilaç direnci göstermiştir.

Raeispour ve Ranjbar (2018), 60 adet UPEC suşunun antibiyotik direnci ve virulans genlerini araştırmışlardır. *E. coli* izolatlarının çoğu sefepime dirençli

bulunmuş (%100); sefalotin (%74), imipenem (%100), vankomisin (%100) ve doksisikline (%100) de yüksek direnç tespit edilmiştir. UPEC, fimbria tip I (fimH), hemolisin (hlyA) ve aerobactin (aer) genlerinin prevalansını sırasıyla %89, %60, %60 ve %90 olarak belirlemişlerdir.

Artan antibiyotik direnci ve biyofilm üretim mekanizmaları gibi nedenlerden dolayı klinik kaynaklı bakterilerin antibiyotik direnç seviyelerinin ve biyofilm üretimlerinin belirlenmesi bu suşlarla mücadelede kilit bir silah olacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Bakteri Suşları

Bu çalışmada; Konya İli merkezinde ve çevre ilçelerde bulunan bazı kamu ve özel hastanelerden temin edilen 135 adet idrar yolu enfeksiyonundan izole edilmiş *Escherichia coli* izolatı toplandı. Çeşitli besi ortamlarında bulunan bu izolatlar hızlı bir şekilde Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri M.Y.O. Araştırma Laboratuvarına getirildi ve saflık kontrolleri yapıldı. Saflaştırılan izolatlar çalışma yapılana kadar uygun saklama ortamlarında -80°C'de muhafaza edildi.

2.1.2. Kullanılan besi yerleri, kimyasal maddeler ve hazırlanması

Çalışmada kullanılacak suşların izolasyonlarının yapılmasında ve kültürlerinin hazırlanmasında kullanılan; Triptik Soy Broth (TSB) besiyeri ticari olarak Difco (Becton Dickinson, NJ USA)'dan; suşların *E. coli* olduğunu doğrulamak için Chromocult TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar ve antibiyogram çalışmasında kullanılan Mueller-Hinton Agar (MHA), %96'lık Etil alkol ticari olarak Merck (Darmstadt, Germany) firmasından; Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS) tabletleri Oxoid (England) firmasından temin edildi.

Triptik Soy Broth:

TSB besiyeri	30 g
Distile su	1000 ml

30 gr TSB 1 litre distile su ile karıştırılıp, dispenser yardımıyla cam tüplere dağıtıldı. Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edildi.

TBX Agar:

TBX agar besiyeri	36,6 g
Dİstile su	1000 ml

TBX agar gerekli hacimdeki saf su içinde ısıtılarak eritilir ve otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilip, steril petri kutularına 15'er ml döküldü.

Müeller Hinton Agar:

Müeller Hinton Agar	34 g
Distile su	1000 ml

Disk difüzyon testinde kullanılmak üzere 34 gr dehidre MHA besiyeri 1 litre distile su içerisinde çözüldü. 121°C' de 15 dakika steril edildi ve steril petri kaplarına kalınlığı 4 mm olacak şekilde aseptik koşullara dikkat edilerek dağıtıldı. Hazırlanan katı besiyerleri sterilite kontrolü için oda ısısında 24 saat bekletildi.

Antibiyogram ve GSBL çalışmalarında kullanmak üzere Amoksisilin/klavulanik asit (AMC), Imipenem (IPM), Ofloxacin (OFX), Sefuroksim (CXM), Aztreonam (ATM), Sefotaksim (CTX), Ertapenem (ETP), Nalidiksik asid (NA), Kanamisin (K), Sefepim (FEP), Seftazidim (CAZ), Meropenem (MEM), Gentamisin (CN), Tetrasiklin (TE), Amikasin (AK), Siprofloksasin (CIP), Ampisilin (AM), Norfloksasin (NOR), Kloramfenikol (C), Moksifloksasin (MXF) antibiyotik diskleri Bioanalyse (Tıbbi Malzeme San. Tic. Ltd. Şti, Türkiye) firmasından tedarik edilmiştir. Bu antibiyotiklerin disk içerikleri Tablo 2.1'de verildi.

Tablo 2.1. Kullanılan antibiyotik diskleri, konsantrasyonları ve inhibisyon zon çaplarının değerlendirilmesi.

Antibiyotik Diskleri	Kısaltması	Disk İçeriği (μg)	Zon Çapı (mm)		
			R (Dirençli)	I (Orta duyarlı)	S Duyarlı
Amoksisilin/klavulanik asit	AMC	20/10	≤18		≥19
İmipenem	IPM	10	≤16	17-21	≥22
Ofloksasin	OFX	5	≤21	22-23	≥24
Sefuroksim	CXM	30	≤18		≥19
Aztreonam	ATM	30	≤20	21-25	≥26
Sefotaksim	CTX	30	≤16	17-19	≥20
Ertapenem	ETP	10	≤24		≥25
Nalidiksik asid	NA	30	≤13	14-18	≥19
Kanamisin	K	30	≤13	14-17	≥18
Sefepim	FEP	30	≤23	24-26	≥27
Seftazidim	CAZ	30	≤18	19-21	≥22
Meropenem	MEM	10	≤15	16-21	≥22
Gentamisin	CN	10	≤13	14-16	≥17
Tetrasiklin	TE	30	≤14	15-18	≥19
Amikasin	AK	30	≤14	16-17	≥18
Siprofloksasin	CIP	5	≤21	22-24	≥25
Ampisilin	AM	10	≤13		≥14
Norfloksasin	NOR	10	≤18	19-21	≥22
Kloramfenikol	C	30	≤16		≥17
Moksifloksasin	MXF	5	≤21		≥22

Kristal viyole boyama yöntemi için kullanılan malzemeler aşağıdaki gibidir:

%2,5'lik Glukoz çözeltisi:

D-Glukoz	2,5 g
Distile su	100 ml

1 gram D-glukoz tartılır ve üzerine 100 ml distile su ilave edilir. İyice çözünmesi sağlandıktan sonra çözelti 110°C'de 20 dk süreyle otoklavda steril edildi.

Fosfat buffer saline (PBS):

Dulbecco's PBS tablet	10 adet
Distile su	1000 ml

PBS tabletler 1000 ml distile su içinde çözündü ve 121°C' de 15 dakika steril edildi.

Kristal Viyole (%0,1)

Kristal viyole boyası	0,1 g
Distile su	100 ml

Kristal viyole (0,1 gram) 100 ml distile su içerisinde tamamen çözündü. Elde edilen solüsyon karanlık bir ortamda ışıktan korunarak saklandı.

2.1.3. Multipleks PZR için kullanılan malzeme ve ekipmanlar

Multipleks PZR, 96 örnek kapasiteli Thermo Master Cycler Gradient PZR cihazında gerçekleştirildi. MgCl2 (25mM), Taq DNA polimeraz (5U/ µl), 10X Taq Buffer, 10mM deoksinükleotid trifosfat (dNTP) set (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermentas) kullanıldı. Multipleks PZR çalışmasında kullanılan primerler Tablo 2.2'de verilmiştir

Tablo 2.2. GSBL ve biyofilm genlerini belirlemek için kullanılan primerler.

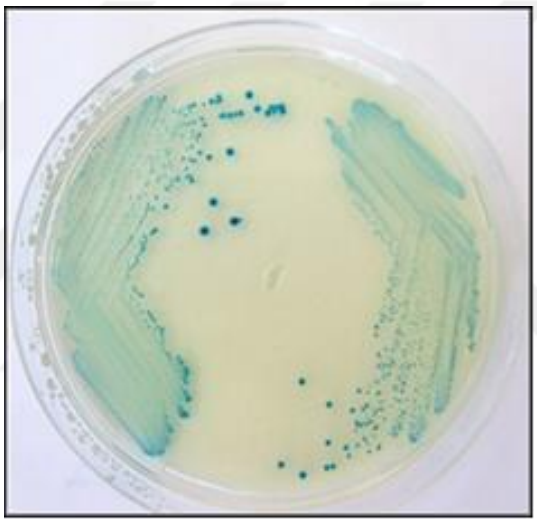
Primerler	Primer sekansları 5' → 3'	Genler	Büyüklüğü (baz çifti)	Referans
CTX-M IV F **CTX-M IV R**	GACAAAGAGAGTGCAACGGATG TCAGTGCGATCCAGACGAAA	*blaCTX-M IV*	501 bç	(Uysal ve ark 2018)
TEM F **TEM R**	AGTGCTGCCATAACCATGAGTG CTGACTCCCCGTCGTGTAGATA	*blaTEM*	431 bç	
OXA F **OXA R**	ATTATCTACAGCAGCGCCAGTG TGCATCCACGTCTTTGGTG	*blaOXA*	296 bç	
SHV F **SHV R**	GATGAACGCTTTCCCATGATG CGCTGTTATCGCTCATGGTAA	*blaSHV*	214 bç	
FimH F **FimH R**	TGCAGAACGGATAAGCCGTGG GCAGTCACCTGCCCTCCGGTA	*fimH*	508 bç	(Johnson ve Stell 2000)

2.2. Yöntem

2.2.1. Suşların Chromocult TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar besiyeri ile identifikasyonu

Klinik örneklerden izole edilen suşların *E. coli* olup olmadıklarını doğrulamak için, izolatlar Chromocult TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar besiyerine tek koloni pasajı yapıldı 24 saatlik inkübasyondan sonra saflığı doğrulandı. Saf kültür olarak üremiş olan kolonilerden triptik soy broth besiyerine ekim yapılarak 24 saat

inkübe edilmiş ve 1:20 oranında gliserol içeren triptik soy broth besiyerinde -80°C'de muhafaza edildi. Stokta saf kültür olarak bulunan kolonilerin üremesi için hazırlanan ve steril edilen TSB besiyerine aseptik koşullarda ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübasyon sağlandı. Chromocult TBX Besiyeri bileşimindeki kromojen substrat 5-bromo-4-kloro-3-indolil-β-D-glukuronid (X-β-D-glukuronid) *E. coli*'deki β-D-glukuronidaz enzimi ile 5-bromo-4-kloro-3-indolil ve β-D-glukuronid'e parçalanır, sonuç olarak *E. coli* kolonileri mavi-yeşil renkli olarak görülür (Şekil 2.1). Yapılan bu test ile *E coli* olduğu doğrulanan suşlar tez çalışmasında kullanıldı (Uysal ve Durak 2012).



Şekil 2.1. TBX Agar besiyerinde *E. coli* kolonilerinin genel görünümü.

2.2.2. Disk difüzyon yöntemi

İdentifikasyonları tamamlanan ve saflaştırılan bakteriler; çeşitli antibiyotiklere duyarlı veya dirençli olup olmadıklarını belirlemek için Kirby-Bauer agar disk difüzyon tekniği kullanıldı. Disk difüzyon testleri, bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığını belirlemenin temel yollarından biridir. Bir agar plakası bakteri kültürü ile inoküle edilir ve farklı antibiyotik içeren diskler inoküle edilmiş yüzeye yerleştirilir, böylece antibiyotik agar yüzeyine difüze olur. Plaka daha sonra inkübe edilir ve bakteriler büyüdükçe antibiyotiklerin bakteri üremesini engellediği durumda "inhibisyon zonu" oluşur. Bakteriler diske kadar büyürlerse, söz konusu antibiyotiğe duyarlı olmadıkları; diskin çevresinde bir ölüm bölgesi oluşursa, bakteri içermeyen

bölgenin büyüklüğüne bağlı olarak bakteri az ya da çok duyarlı kabul edilir (Trushenski ve ark 2020).

TSB besiyerine ekim yapılarak yeterli *E.coli* suşlarının gecelik taze kültürleri hazırlandı. Hücre yoğunluğunu, 0,5 McFarland ($1x10^8$ Koloni oluşturan birim (kob) /ml bulanıklığında olacak şekilde) skalasına göre ayarlamak için steril %0,9 serum fizyolojik kullanıldı. Hücre yoğunluğu (bulanıklığı) 0,5 McFarland ile eşleşecek şekilde standardize edilen kültür; steril eküvyon çubuğu ile MHA besiyeri plakalarına yayma ekim yöntemi ile inoküle edildi. Çizelge 2.1.'de içerikleri belirtilen antibiyotik diskler, inokülasyondan 10-15 dakika sonra plakalara steril pens ile diskler arasında 25-30 mm mesafe bırakılacak şekilde aseptik şartlarda yerleştirildi. Plakalar 37ºC'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. İnhibisyon bölgesi çapları en yakın milimetreye kadar, aydınlık ortamda cetvelle ölçüldü (Uysal ve ark 2018).

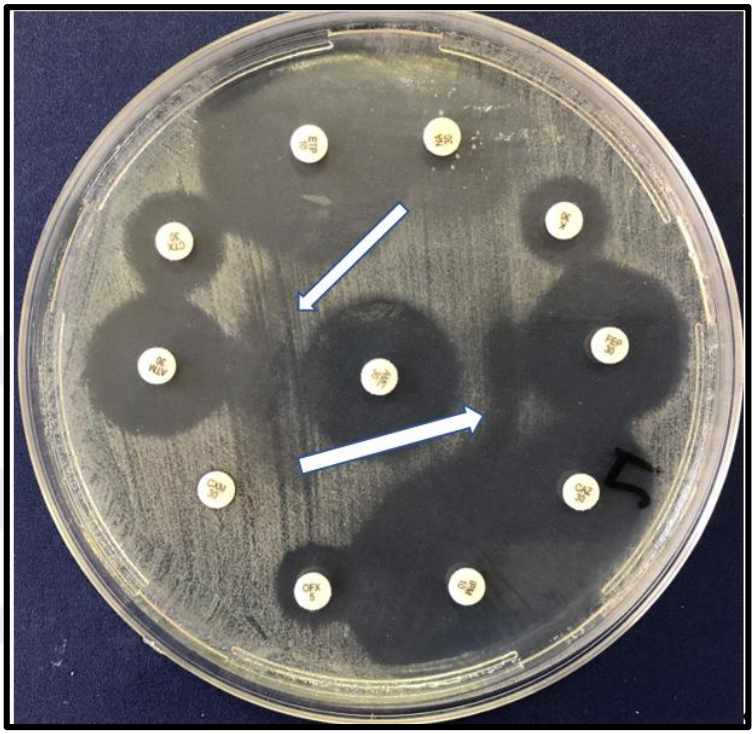
Zon çapları değerlendirilmesinde European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST 2019) ve Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI 2011) kriterleri esas alınarak suşlar duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak belirlendi.

2.2.3. Çift disk sinerji yöntemi

GSBL'lerin fenotipik tespiti, klavulanik asit tarafından inhibe edilmelerine dayanmaktadır. Bu nedenle, klavulanik asit varlığında 3. kuşak sefalosporin veya aztreonam aktivitesindeki bir artış dolaylı olarak GSBL varlığını gösterir. GSBL varlığını tespit için çeşitli testler bilinmektedir ve klinik mikrobiyolojide en çok kullanılan yöntem çift disk sinerji testidir. Çift disk sinerji testi; bir amoksisilin-klavulanik asit diskinin bir sefotaksim, seftazidim ve / veya aztreonamın merkezden merkeze yerleştirilmesinden oluşur. GSBL üretimi, 3. kuşak sefalosporin veya aztreonam ve klavulanik asit arasında çok karakteristik sinerjistik görüntülerle sonuçlanır ve bu görüntü; şampanya-mantar görüntüsü olarak adlandırılır. (Dougnon ve ark 2020).

Disk diffüzyon yönteminde olduğu gibi MHA besiyeri plakalarına *E.coli* inoküle edilmiş ve plakalardaki antibiyotik dizilimi şöyle olmuştur; plakaların ortasına Amoksisilin/klavulanik asit yerleştirilmiş ve sırasıyla çevresine aralarında 30 mm mesafe bırakılarak; Aztreonam, Sefotaksim, Nalidiksik asit, ve Seftazidim

yerleştirildi. İnkübasyondan sonra antibiyotiklerden herhangi birinin inhibisyon bölgesinin kenarının klavulanik asit içeren diske doğru açık bir şekilde uzaması (fantom oluşturması), GSBL üretimi için pozitif olarak yorumlandı (Şekil 2.2) (Uysal ve ark 2018).



Şekil 2.2. GSBL pozitif bir suşta (21 nolu suş) Klavulanik asit etkisi ile meydana gelmiş fantom bölgeleri

2.2.4. Kristal Viyole Boyama Yöntemi

Biyofilm oluşturma deneyi, daha önce bazı modifikasyonlarla (Das ve Dash 2014) tarif edilen yönteme göre 96 kuyucuklu mikrotitre plakalarında üç tekrarlı gerçekleştirildi. İzole edilmiş suşlar, gece boyunca 37°C'de TSB ortamında büyütüldü. Kültürler daha sonra taze hazırlanmış %2,5 glukoz içeren TSB içerisinde 1:100 oranında seyreltildi. Daha sonra her bir oyuğa 200 µL seyreltilmiş kültür eklendi. Plakalar, statik koşullar altında 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyonun ardından plakalar üç kez steril fosfat tamponlu salin (PBS) kullanılarak yıkandı ve oyuklara %0,1 kristal viyole çözeltisi ilave edildi. Plakalar, oda sıcaklığında 15 dakika süreyle inkübe edildi ve üç kez PBS ile yıkandı. Biyofilm oluşum yeteneği renk

yoğunluğuna göre değerlendirilebilir. Biyofilm oluşturma yeteneğini ölçmek için, plakaların kuruması beklenildi ve sonra boyayı çözmek için %95 etil alkol ilave edildi. Son olarak Optik dansite (OD), 550 nm dalga boyunda bir mikroplaka okuyucu (Bio-Rad, ABD) kullanılarak kaydedildi ve suşlar ve OD değerlerine göre, biyofilm üreticileri yok (Grup I) veya biyofilm üreticileri var (Grup II) olmak üzere iki gruba ayrıldı (Samet ve ark 2014, Zamani ve Salehzadeh 2018).

2.2.5. *E. coli* suşlarının DNA izolasyonu ve GSBL genlerinin Multipleks ve *fim*H geninin klasik PZR yöntemi ile belirlenmesi

Fenotipik olarak GSBL pozitif ve biyofilm pozitif suşların; bu aktivitelerden sorumlu genlerinin belirlenmesi amacı ile öncelikli olarak DNA'ları izole edildi. İzolasyon için Moore ve ark (2004) tarafından belirlenen kaynatma yöntemi bazı modifikasyonlarla uygulandı.

- Steril 2 ml'lik ependorf tüplere 500 µl saf su eklendi.
- Örnek numaraları üzerlerine yazılmış bu tüplere canlandırılmış bakteri kültüründen 2-3 öze dolusu süspanse edildi.
- Tüpler kaynamakta olan su banyosunda 10 dakika kadar bekletildi.
- Sürenin sonunda tüpler buz üzerine alınarak 5 dakika inkübe edildi.
- 10000 rpm de 12°C'de 5 dakika santrfüj edildi.
- Süpernatantlar steril ve üzerlerine numara yazılmış yeni tüplere aktarıldı.
- Kullanılana kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Bu işlemlerin ardından elde edilen DNA'ların saflık ve miktar kontrolleri nanodrop cihazı ile belirlendi.

GSBL genleri olan *blaCTX-M IV, blaSHV, blaOXA ve blaTEM* multipleks PZR yöntemi ile belirlendi. Multipleks reaksiyonu 1,5 mM $MgCl_2$, her dNTP'den 100 pmol, her primerden 10 pmol, 2 unit Taq DNA polimeraz (Fermentas) ve 2 µl kalıp DNA ile 10µl hacim içerikli 1x PZR içeren bir deney tamponuyla gerçekleştirildi. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme (termal cycler, Thermo Master Cycler) cihazına yüklenip, istenen programa ayarlandı. Multipleks PZR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Çizelge2.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. GSBL genlerinin belirlenmesi için Multipleks PZR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı.

Basamak	Döngü sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre
Başlangıç Denatürasyon	1	94	5 dk
Denatürasyon	30	94	1 dk
Bağlanma	30	56	1 dk
Uzama	30	72	1dk
Son Uzama	1	72	5 dk

PZR ürünleri, 100 mV'de 1 saat boyunca %2 (w/v) agaroz jel içinde elektroforez ile ayrıldı ve bir jel görüntüleme sistemi kullanılarak görüntülendi. PZR amplikonlarının boyutu, moleküler ağırlık boyutu markerine (Gene Ruler Ladder SM0371, Fermentas) karşılaştırılarak hesaplandı (Uysal ve ark 2018).

fimH geninin belirlenmesi için gerekli koşullar ise şöyledir:

PZR reaksiyonu ilk olarak 10x Reaksiyon Tampon 2,5 µl, dNTP mix 0,2 µl, primerlerin herbirinden 1 µl, Taq polimeraz 0,2 µl, distile su 11,35 µl bileşenleri içeren bir master mix hazırlandı. PZR koşullar Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Çizelge 2.4. *fimH* genlerinin belirlenmesi için PZR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı.

Basamak	Döngü sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre
Başlangıç Denatürasyon	1	94	4 dk
Denatürasyon	33	94	30 sn
Bağlanma	33	58	30 sn
Uzama	33	72	1dk
Son Uzama	1	72	7 dk

PZR işleminden sonra örnekler ve marker Etidium Bromür ilave edilmiş %2 (w/v) agaroz jele yüklendi, elektroforez tankının kapağı kapatılıp elektrotlar uygun pozisyonda bağlandıktan sonra, elektroforez cihazında 100 mV'da 25 dakika yürütüldü. Elektroforez işleminin ardından jel, dikkatli bir şekilde alınarak bilgisayara bağlı durumdaki görüntüleme cihazına yerleştirildi. UV ışığı altında fotoğraflandıktan sonra, görülen bantlar markere bakılarak değerlendirildi (Khorshed ve Arslan 2015).

3. BULGULAR

3.1. *E. coli* suşlarının kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları

Bu çalışmada teşhisleri yapılan 135 *E. coli* suşunun farklı 20 antibiyotiğe karşı duyarlılığı CLSI ve EUCAST kriterlerine göre değerlendirildi. UPEC suşlarının antibiyogram sonuçları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli*'lerin kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli (R), orta duyarlı (I) ve duyarlı (S) suş sayıları ve % oranları.

ANTİBİYOTİKLER	R		I		S	
	%	n	%	n	%	n
AMC	28,9	39	0	0	71.1	96
IPM	1,48	2	0	0	98,5	133
OFX	31,1	42	0,74	1	68,1	92
CXM	25,2	34	0	0	74,8	101
ATM	18,5	25	5,19	7	76,3	103
CTX	20,7	28	3,7	5	75,6	102
ETP	5,19	7	0	0	94,1	128
NA	40	54	2,96	4	57	77
K	17	23	30,4	41	52,6	71
FEP	20,7	28	5,19	7	74,1	100
CAZ	18,5	25	3,7	5	77,8	105
MEM	0	0	0	0	100	135
CN	20,7	28	24,4	33	54,8	74
TE	40,7	55	2,96	4	56,3	76
AK	2,22	3	9,63	13	88,1	119
CIP	28,9	39	4,44	6	66,7	90
AM	50,4	68	0	0	49,6	67
NOR	27,4	37	0,74	1	71,9	97
C	13,3	18	0	0	86,7	117
MXF	31,1	42	0	0	68,9	93

Bu tabloya göre kullanılan suşlardan Beta laktam grubundan, Amoksisilin/klavulanik asite (AMC) karşı 39 suş (%28,9) dirençli, geri kalan 96 suş (%71,1) ise duyarlı olarak tespit edilirken; Ampisiline (AM) karşı 68 suş (%50,4) dirençli, 67 suş (%49,6) duyarlı olarak belirlendi. Suşlar içerisinde en yüksek direnç oranı ise yine Ampisilin antibiyotiğine aittir.

Karbapenem grubundan, İmipeneme (IPM) karşı 2 suş (%1,48) dirençli, Ertapeneme (ETP) karşı 7 suş (%5,19) dirençli olarak rapor edildi. Bu gruba ait Meropeneme (MEM) karşı herhangi bir direnç tespit edilmedi ve suşların tamamı duyarlı olarak gözlemlendi.

İkinci kuşak sefalosporin olan Sefuroksime (CXM) karşı 34 suş (%25,2) dirençli; üçüncü kuşak sefalosporinlerden biri olan Sefotaksime (CTX) karşı 28 suş (%20,7) dirençli, 5 suş (%3,7) orta duyarlı ve 102 suş (%75,6) ise duyarlı olarak tespit edildi. Üçüncü kuşak bir diğer sefalosporin olan Seftazidime (CAZ) karşı 25 suş (%18,5) dirençli, 5 suş (%3,7) orta duyarlı, 105 suş (%77,8) ise duyarlı olarak belirlenirken; dördüncü kuşak sefalosporin olan Sefepime (FEP) karşı 28 suş (%20,7) dirençli, 7 suş (%5,19) orta duyarlı, 100 suş (%74,1) ise duyarlı olarak gözlemlendi (Tablo 3.1). Tabloda da görüldüğü üzere UPEC suşlarının sefalosporin grubu antibiyotikler arasında en yüksek direnci (%25,2) Sefuroksime, ikinci sırada ise %20,7 direnç oranı ile sefepim ve sefotaksime karşı gösterdiği ortaya koyuldu.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerden Amikasine (AK) karşı 3 suş (%2,22) dirençli, 13 suş (%9,63) orta duyarlı ve 119 suş (%88,1) ise duyarlı olarak gözlemlenmiştir. Aynı guruptan Gentamisine (CN) karşı 28 suş (%20,7) dirençli, 33 suş (%24,4) orta duyarlı ve 74 suş (%54,8) ise duyarlı olarak tespit edilmiştir. Gurubun bir diğer üyesi olan Kanamisine (K) karşı 23 suş (%17) dirençli, 41 suş (%30,4) orta duyarlı, 71 suş (%52,6) ise duyarlı olarak belirlendi.

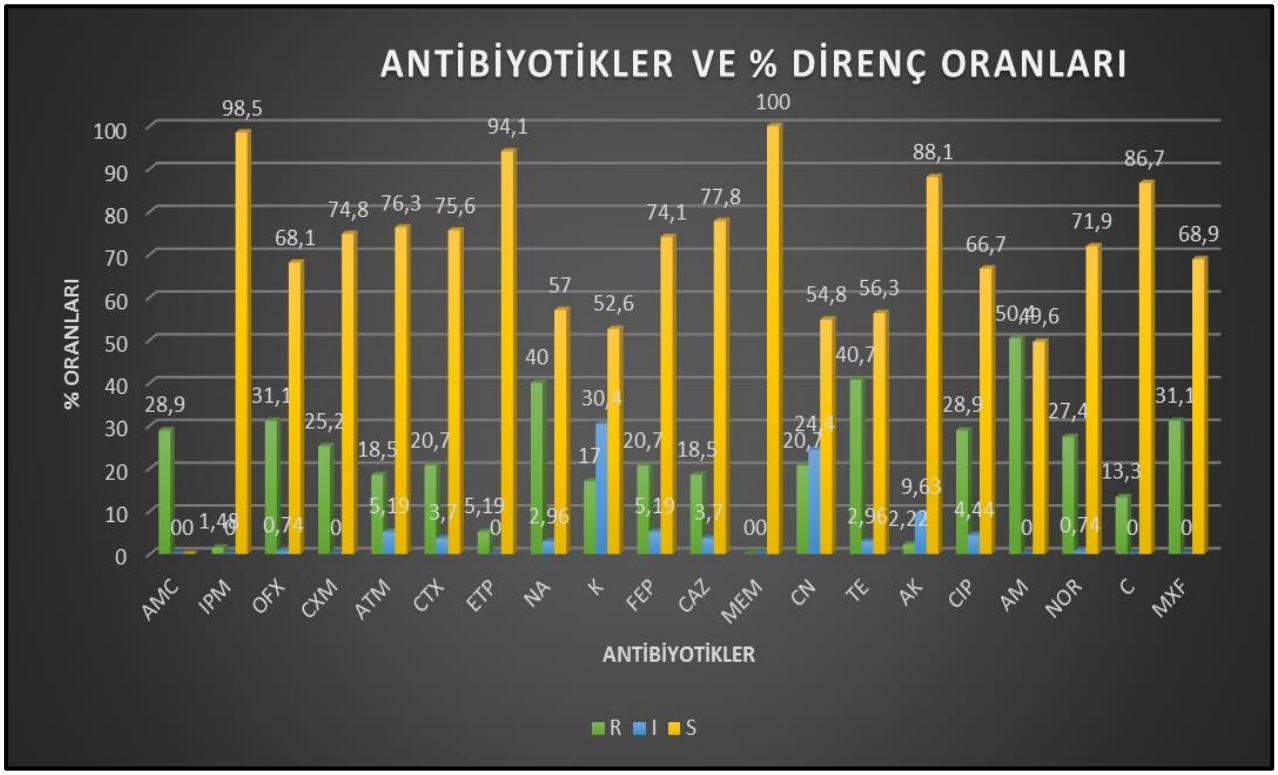
Tetrasikline (TE) karşı 55 suş (%40,7) dirençli, 4 suş (%2,96) orta duyarlı ve 76 suş (%56,3) ise duyarlı olarak belirlendi. Bu antibiyotiğe karşı görülen direnç oranı suşlar arasındaki en yüksek ikinci oran olarak rapor edildi (Tablo 3.1).

Kinolon grubu antibiyotiklere verilen tepkiler değerlendirildiğinde; Ofloksasine (OFX) karşı 42 suş (%31,1) dirençli, 1 suş (%0,74) orta duyarlı ve 92 suş (%68,1) duyarlı olarak belirlenirken; gurubun diğer bir üyesi olan Nalidiksik aside (NA) karşı 54 suş (%40) dirençli, 4 suş (%2,96) orta duyarlı ve 77 suş (%57) duyarlı olarak belirlendi. Norfloksasine (NOR) karşı 37 suş (%27,4) dirençli, 1 suş (%0,74) orta duyarlı ve 97 suş (%71,9) ise duyarlı olarak tespit edilmiştir. Moksifloksasin'e (MXF) karşı 42 suş (%31,1) dirençli, 93 suş (%68,9) duyarlı olarak kabul edildi (Tablo 3.1).

İkinci kuşak kinolon grubu antibiyotiklerden olan Siprofloksasine (CIP) karşı 39 suş (%28,9) dirençli, 6 suş (%4,44) orta duyarlı ve 90 suş (%66,7) ise duyarlı olarak belirlendi.

Monobaktam gurubundan ise Aztreonam'a (ATM) karşı 25 suş (%18,5) dirençli, 7 suş (%5,19) orta duyarlı ve 103 suş (%76,3) ise duyarlı olarak saptandı.

Amfenikoller grubundan olan Kloramfenikol'a (C) karşı 18 suş (%13,3) dirençli, 117 suş (%86,7) duyarlı olarak belirlenmiştir. *E. coli* suşlarının dirençli, orta duyarlı ve duyarlı sayılarının % oranları Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. UPEC suşlarının dirençli, orta duyarlı ve duyarlı sayılarının % oranları.

Buradan elde edilen verilere göre idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* suşlarının en çok direnç gösterdiği antibiyotiklerin sırasıyla; Ampisilin (%50,4), Tetrasiklin (%40,7), Nalidiksik asit (%40), Ofloksasin ve Moksifloksasin (%31,1), Amoksisilin/klavulanik asit ve Siprofloksasin (%28,9) olduğu söylenebilir.

E. coli suşlarının çoklu antibiyotik direnç indeksi ve dirençli olduğu antibiyotiklere göre direnç profili Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. *E. coli* suşlarının direnç profilleri, suş sayıları, çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi, GSBL ve Biyofilm özelliklerinin dağılımı.

Direnç Tipi (Rezisto tip)	DİRENÇ PROFİLİ	SUŞ SAYISI	SUŞ NO	ÇAD İndeksi	GSBL	BİYOFİLM
1	ETP	3	AE 8, 22,39	0,05		
2	CIP	1	AE 25	0,05		
3	C	1	AE 27	0,05		
4	NA	1	AE 33	0,05		***fimH* (+)**
5	CN	2	AE 40,58	0,05		
6	TE	3	AE 46,67,100	0,05		
7	MXF	1	AE 78	0,05		
8	AK	1	AE 113	0,05		
9	AMC	1	AE 131	0,05		
10	AM	1	AE 135	0,05		
11	AM, TE	4	**AE 32***,62,63, 111	0,1	***TE M,OX A**	
12	AMC,AM	3	AE 53,79,121	0,1		
13	NA,TE	1	AE 99	0,1		
14	AM,NA,TE	2	AE 34,115	0,15		
15	AMC,AM,C	1	AE 125	0,15		
16	AM,AMC,NA	1	AE 133	0,15		
17	IPM,CN,TE,AK	1	AE 3	0,2		
18	AMC,TE,AM,C	1	AE 19	0,2		
19	NA,TE,AM,C	1	AE 30	0,2		
20	CXM,CTX,FEP,AM	2	**AE 31****, **AE90***	0,2	***TE M****	****fimH* (+)**
21	OFX,NA,TE,AM	1	AE 61	0,2		
22	AMC,NA,TE,AM	1	AE 126	0,2		
23	AMC,CN,TE,AM	1	**AE 127**	0,2		***fimH* (+)**
24	AMC,NA,CN,TE,AM	1	AE 72	0,25		
25	OFX,NA,CIP,NOR,MXF	1	AE 74	0,25		
26	NA,K,CN,TE,C	2	AE 101, 110	0,25		
27	OFX,NA,K,TE,AM	1	AE 117	0,25		
28	CXM,ATM,CTX,NA,FEP,AM	1	**AE 71**	0,3	**TEM**	
29	AMC,NA,K,TE,AM,MXF	1	AE 103	0,3		
30	AMC,OFX,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 108	0,3		
31	OFX,NA,K,CN,CIP,C,MXF	1	AE 37	0,35		
32	OFX,CXM,NA,CIP,AM,NOR,MXF	1	**AE 51**	0,35	**CTXM, TEM**	
33	CXM,ATM,FEP,CAZ,TE,AM,MXF	1	**AE 57**	0,35	**TEM**	
34	CXM,ATM,CTX,FEP,CAZ,TE,AM	1	**AE 69**	0,35	**TEM, OXA**	
35	OFX,NA,TE,CIP,AM,NOR,MXF	2	AE 94,96	0,35		
36	AMC,OFX,NA,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 129	0,35		
37	OFX,K,CN,TE,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 35	0,4		

38	OFX,NA,CN,TE,CIP,AM,NOR,MXF	2	AE 50,52	0,4		
39	AMC,OFX,NA,K,TE,AM,C,MXF	1	AE 82	0,4		
40	AMC,CXM,ATM,CTX,FEP,CAZ,TE,AM	1	AE 112	0,4		
41	AMC,OFX,NA,TE,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 122	0,4		
42	AMC,OFX,CXM,NA,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 130	0,4		
43	OFX,CXM,CTX,CN,TE,CIP,AM,NOR,MXF	1	**AE 21**	0,45	**TEM, OXA**	
44	AMC,CXM,NA,FEP,CN,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 24	0,45		
45	OFX,NA,K,TE,CIP,AM,NOR,C,MXF	1	AE 48	0,45		
46	OFX,NA,CN,TE,CIP,AM,NOR,C,MXF	1	AE 91	0,45		
47	AMC,CXM,ATM,CTX,FEP,CAZ,TE,AM,C	1	**AE 98**	0,45	**CTX M,TE M**	
48	AMC,CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CAZ,TE,A M	1	AE 104	0,45		
49	CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CAZ,CN,AM,C	1	**AE 116**	0,45	**TEM**	
50	OFX,CXM,NA,FEP,CAZ,CN,CIP,AM,NOR, MXF	1	AE 2	0,5		
51	AMC,OFX,CXM,NA,CN,TE,CIP,AM,NOR, MXF	1	AE 18	0,5		
52	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CAZ,T E,AM	1	AE 28	0,5		
53	OFX,NA,K,CN,TE,CIP,AM,NOR,C,MXF	2	AE 36,95	0,5		
54	AMC,OFX,NA,K,CN,TE,CIP,AM,NOR,C,M XF	1	AE 41	0,55		
55	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CIP,A M,NOR,MXF	1	**AE 49**	0,55	**TEM**	
56	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CAZ,C IP,AM,NOR,MXF	1	**AE 59**	0,6	**TEM, OXA**	
57	AMC,IPM,OFX,CXM,ATM,CTX,ETP,NA,K ,FEP,CAZ,TE,AM	1	**AE 4**	0,65	**TEM**	
58	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CAZ,C N,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 9	0,65		*fimH* (+)
59	OFX,CXM,ATM,CTX,NA,K,FEP,CAZ,TE,C IP,AM,NOR,MXF	1	AE 45	0,65		
60	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,K,CAZ,TE, CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 76	0,65		*fimH* (+)
61	AMC,OFX,CXM,CTX,NA,K,FEP,CAZ,TE,C IP,AM,NOR,C,MXF	1	AE 10	0,7		
62	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,K,FEP,CA Z,TE,CIP,AM,NOR,MXF	2	**AE 60***,92	0,7	***TE M, OXA**	
63	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CAZ,C N,TE,CIP,AM,NOR, MXF	1	AE 83	0,7		*fimH* (+)
64	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,ETP,NA,FEP,C AZ,CN,CIP,AM,NOR, MXF	1	AE 114	0,7		
65	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,ETP,NA,FEP,C AZ,TE,CIP,AM,NOR, MXF	1	AE 128	0,7		
66	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,K,FEP,CA Z,CN,TE,CIP,AM,NOR, MXF	3	**AE 54****, **102*,124***	0,75	***TE M**	** ***fimH*** **(+)**
67	OFX,CXM,ATM,CTX,NA,K,FEP,CAZ,CN, TE,CIP,AM,NOR,C,MXF	1	**AE 86**	0,75	**TEM**	
68	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,NA,K,CAZ,TE, AK,CIP,AM,NOR,C, MXF	1	AE 134	0,75		
69	AMC,OFX,CXM,ATM,CTX,ETP,NA,K,FEP ,CAZ,CN,TE,CIP,AM, NOR, MXF	1	AE 23	0,8		
			©AE 118, 132			**© *fimH* (+)**

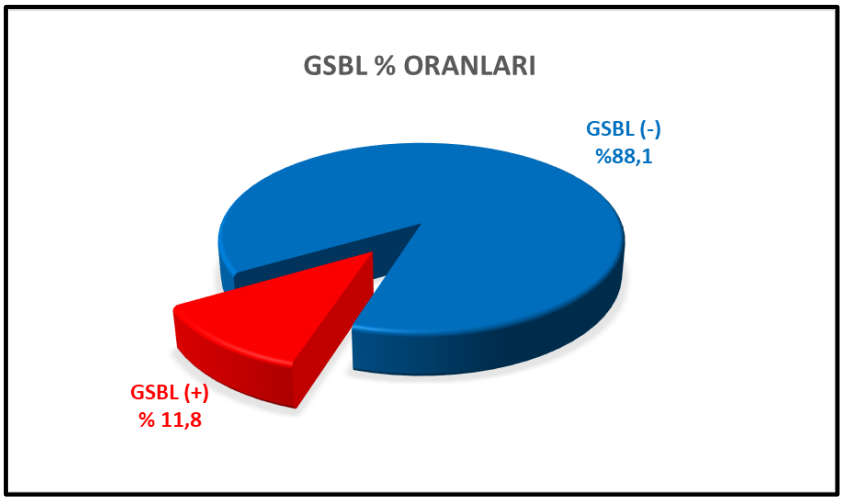
© Herhangi bir antibiyotiğe direnç göstermemesine rağmen biyofilm pozitif olan suşlar.

İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen suşlar arasında birbirinden farklı 69 direnç profili tespit edildi. Bunlar içerisinde en yaygın profillerin durumları şöyledir: AE 32, 62, 63, 111 no'lu suşların iki farklı antibiyotiğe (AM, TE) karşı gözlenen direnç profili baskın profil olarak belirlendi. Bu profilin suşlar arasındaki dağılımı %2,96 ve ÇAD indeksi ise 0,1 olarak tespit edilmiştir. ETP'ye direnç gösteren üç suş (AE 8, 22, 39) belirlendi. Bu suşların çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi 0,05 ve profilin suşlar arasındaki dağılımı ise %2,2 olarak saptandı. AE 46, 67, 100 no'lu suşların bir antibiyotiğe (TE) direnç gösterdiği ve bu profilin suşlar arasındaki dağılımının %2,22 olduğu görüldü. İki farklı antibiyotiğe (AMC, AM) karşı gösterilen direnç profili üç suşta gözlendi (%2,22). Bu profili gösteren AE 53, 79, 121 no'lu suşlar olup ÇAD indeksleri 0,1 olarak belirlendi. On beş farklı antibiyotiğe (AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, K, FEP, CAZ, CN, TE, CIP, AM, NOR, MXF) karşı gösterilen direnç profili üç suşta gözlendi (%2,22). Bu profili gösteren AE 54, 102, 124 no'lu suşlar olup ÇAD indeksleri 0,75 olarak belirlendi. Sayıca en çok antibiyotiğe direnç gösteren, AE 23 no'lu suş olup, 16 antibiyotiğe (AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, ETP, NA, K, FEP, CAZ, CN, TE, CIP, AM, NOR, MXF) dirençli olduğu belirlendi. ÇAD indeksi 0,8 olarak tespit edildi ve bu değerin suşlar içerisindeki en yüksek değer olduğu belirtildi.

Suşların geneline bakıldığında, tek antibiyotiği kapsayan on, iki antibiyotiği kapsayan üç, üç antibiyotiği kapsayan üç, dört antibiyotiği kapsayan yedi, beş antibiyotiği kapsayan dört, altı antibiyotiği kapsayan üç, yedi antibiyotiği kapsayan altı, sekiz antibiyotiği kapsayan beş, dokuz antibiyotiği kapsayan yedi, 10 antibiyotiği kapsayan dört, 11 antibiyotiği kapsayan iki, 12 antibiyotiği kapsayan bir, 13 antibiyotiği kapsayan dört, 14 antibiyotiği kapsayan beş, 15 antibiyotiği kapsayan üç, 16 antibiyotiği kapsayan bir direnç profili belirlendi (Tablo 3.2).

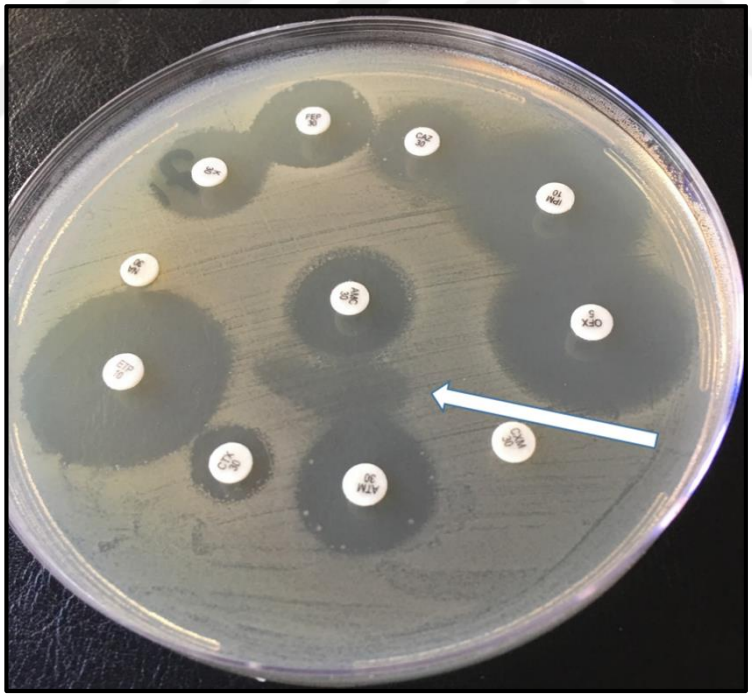
3.2. *E. coli* suşlarının GSBL üretiminin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi

E.coli suşların GSBL pozitif veya negatif olduğunun tespiti için çift disk sinerji yöntemi kullanıldı. Sonuç olarak suşların 16 adedi (%11,8) GSBL pozitif ve 119 adedi (%88,1) GSBL negatif olduğu gözlemlendi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *E. coli* suşlarının GSBL pozitif ve negatif % oranları.

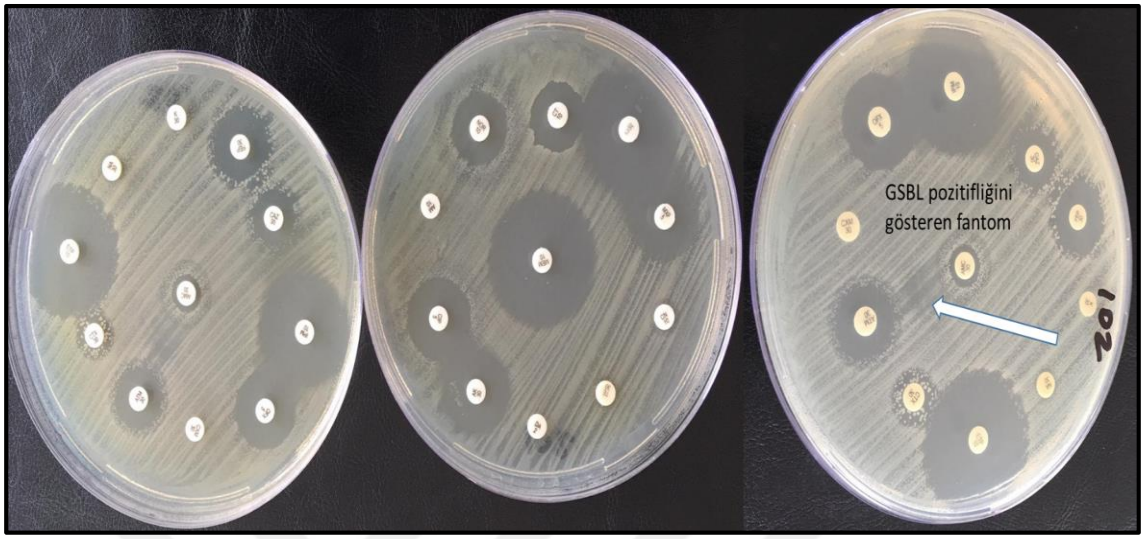
GSBL üreten suş sayıları düşük olmasına rağmen (%11,8), bu suşlar beklendiği gibi en az iki veya daha fazla antibiyotiğe dirençliydi. AE 32 numaralı suş 2 antibiyotiğe direnç gösterdi. AE 31 ve 90 numaralı suşlar 4 antibiyotiğe; AE 71 numaralı suş 6 antibiyotiğe direnç sergiledi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. AE 71 nolu suşa ait GSBL plağı (Klavulanik asit tarafından meydana getirilen fantom bölgesi ok ile gösterilmiştir).

AE 51, 57 ve 69 numaralı suşlar 7 antibiyotiğe; AE 21, 98 ve 116 numaralı suşlar 9 antibiyotiğe; AE 49 numaralı suş 11 antibiyotiğe; AE 59 numaralı suş 12 antibiyotiğe; AE 4 numaralı suş 13 antibiyotiğe; AE 60 numaralı suş 14 antibiyotiğe

direnç gösterdi. Bunu takiben AE 86 ve 102 numaralı suşlar 15 antibiyotiğe direnç gösterdiği belirlendi (Şekil 3.4) (Tablo 3.2).



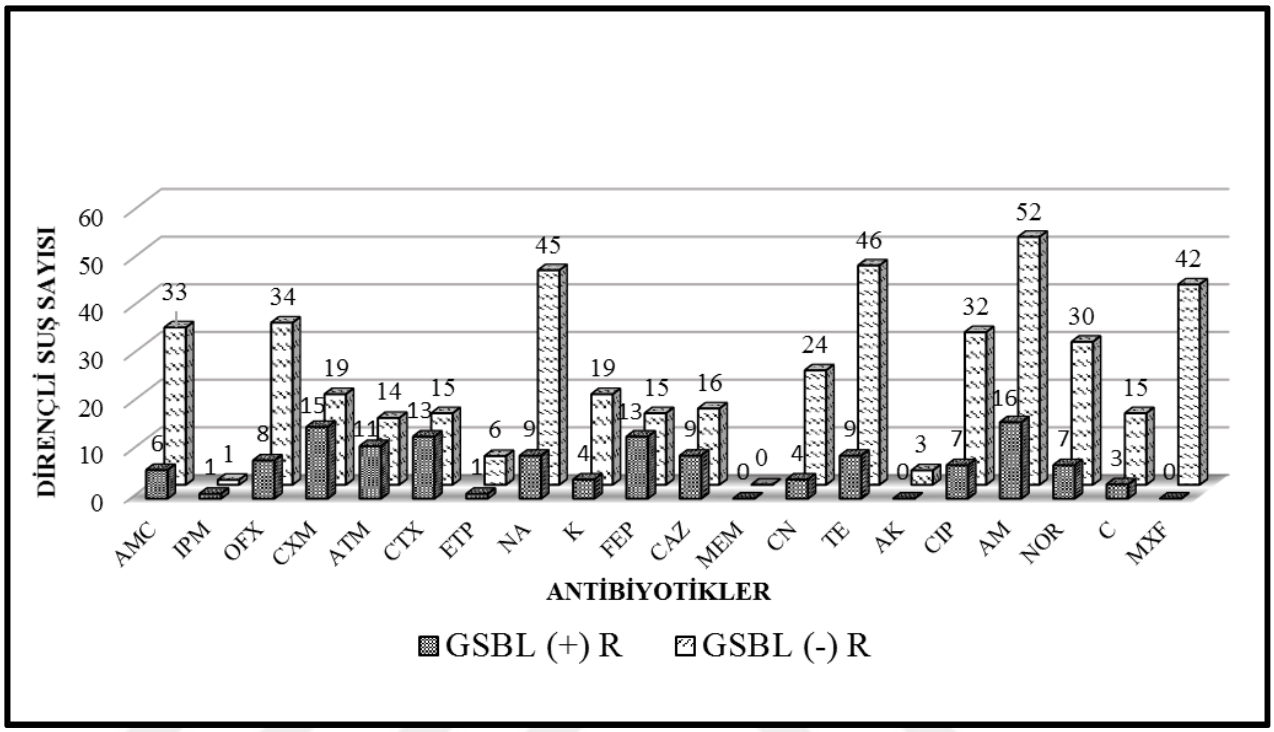
Şekil. 3.4. AE 102 nolu suşa ait antibiyogram ve GSBL plağı

GSBL üreten suşların en fazla Ampisiline (16 suş), ikinci sırada sefuroksime (15 suş), üçüncü sırada Sefepime ve Sefotaksime (13 suş), dördüncü sırada Aztreonama (11 suş) dirençli oldukları belirlendi. GSBL (+) suşların tamamının Meropenem ve Amikasine karşı herhangi bir direnç göstermedikleri tespit edildi (Şekil 3.5). Çift disk sinerji metodu ile GSBL (+) oldukları tespit edilen 16 suşun, genotipik olarak da hangi GSBL genleri ile ifade edildiklerinin tespiti amacı ile multipleks PZR yöntemi kullanıldı. Bu yöntem ile *blaCTX-M, blaTEM, blaSHV, blaOXA* beta laktamaz genlerinin tespiti yapıldı. GSBL genleri ihtiva eden suşların hangi genleri taşıdığı Tablo 3.2 de gösterildi. PZR ürünlerinin tahmini boyutları olan 501 bç, 431 bç ve 296 bç; elektroforez işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü üzerinde belirlendi (Şekil 3.6).

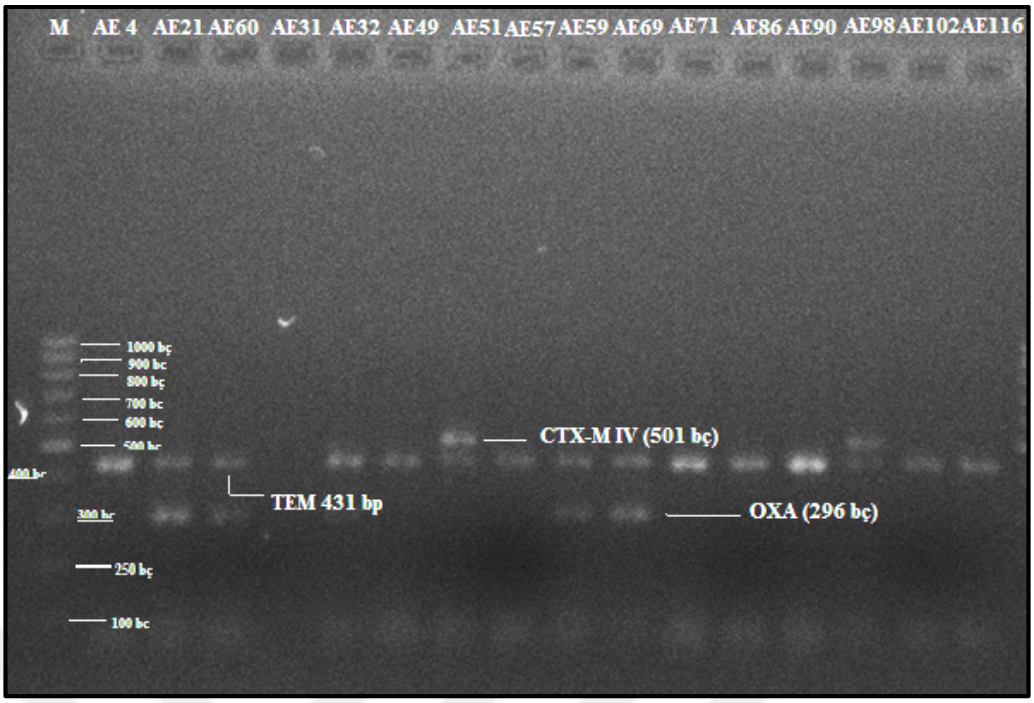
Buna göre fenotipik olarak 16 GSBL pozitif suştan 15'i genotipte doğrulanırken sadece bir suşun test edilen primerlere karşı negatif olduğu yani bu gen gruplarından biri ile ifade edilmediği belirlendi.

GSBL pozitif suşlardan AE 31 nolu suş hariç diğerleri (AE 4, 21, 32, 49, 51, 57, 59, 60, 69, 71, 86, 90, 98, 102 ve 116) *blaTEM* genini taşıdığı gözlemlendi. AE 21, 32, 59, 60, 69 nolu suşların *blaTEM* ile birlikte *blaOXA* genini birlikte taşıdığı belirlendi. AE 51 ve AE 98 nolu suşların ise *bla CTX-M IV* ve *blaTEM* genleri ile

birlikte ifade edildiği gözlemlendi. Fenotipik olarak GSBL pozitif olarak belirlenen suşların hiçbirinde *blaSHV* genine rastlanmadı (Şekil 3.6).



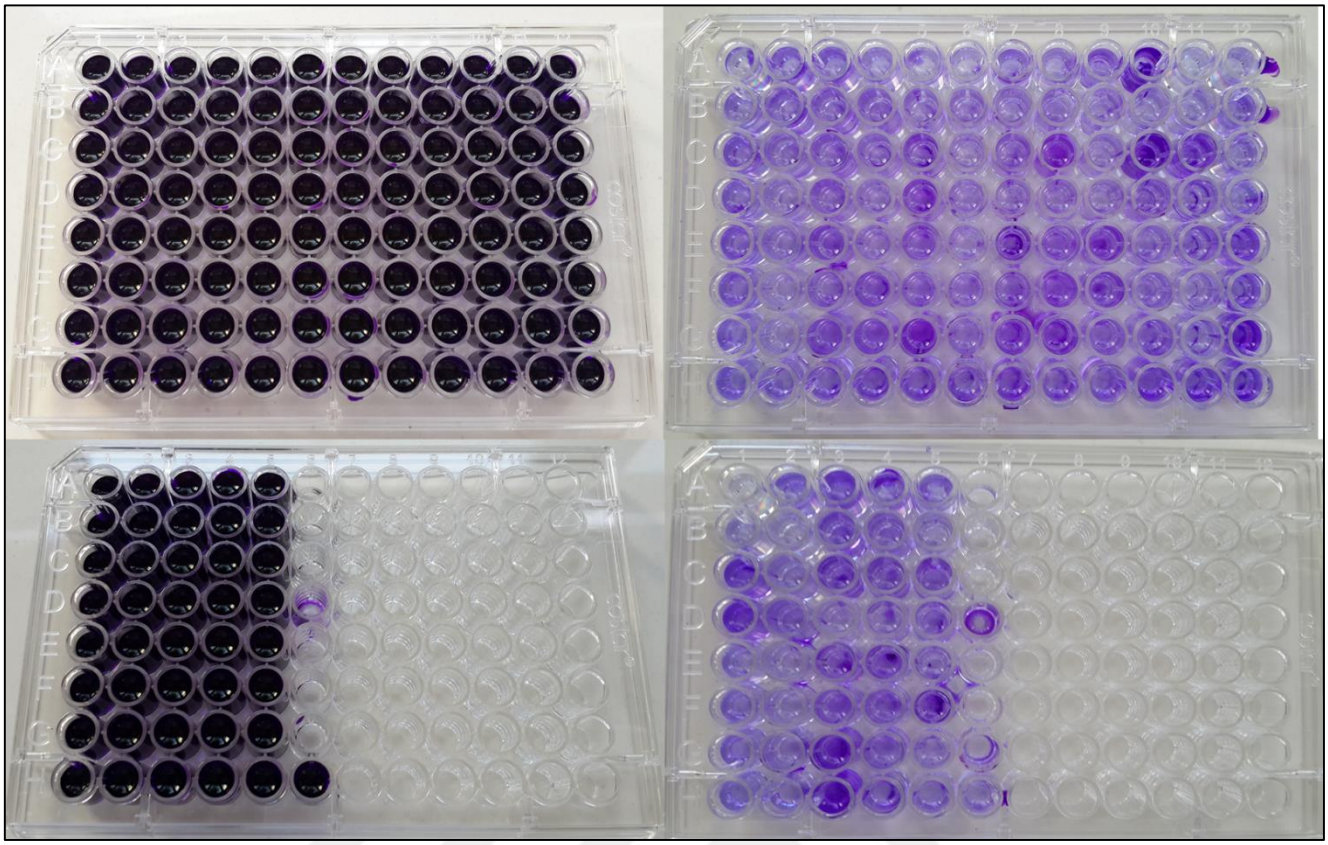
Şekil 3.5. GSBL üreten (+) ve GSBL üretmeyen (-) dirençli suş sayıları.



Şekil 3.6. Fenotipik olarak GSBL ürettiği doğrulanan suşların (AE4, 21, 60, 31, 32, 49, 51, 57, 59, 69, 71, 86, 90, 98, 102, 116) GSBL genlerini gösteren jel görüntüsü. Gene Ruler Ladder büyüklük markeri olarak kullanldı (SM0371, Fermentas).

3.3. Biyofilm test sonuçları

135 adet UPEC suşunun biyofilm meydana getirme kapasiteleri fenotipik ve genotipik yöntemler ile tespit edildi. İzolatların fenotipik biyofilm oluşturma kabiliyetleri kristal viyole boyama yöntemi ile mikrotitre plakaları kullanılarak gözlemlendi. (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Biyofilm çalışmasına ait mikrotirasyon plaklarında kristal viyole ile boyama ve yıkama sonrası görünümleri.

Kristal viyole boyama metodu ile spektrofotometrik ölçüme dayanarak gerçekleştirilen test sonucunda izolatların %7,4'ü biyofilm oluşturma kabiliyeti gösterdi. Biyofilm oluşumu skorlaması aşağıda belirtildi.

Mikrotitrasyon plakları 550 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı (Şekil 3.8) ve mikrotitrasyon plaklarının ölçüm sonuçlarından %2,5 glikoz içeren (A1) kuyucuğundan elde edilen değer çıkarılır ve en küçük değer tespit edilip standart sapması alınır. Daha sonra elde edilen standart sapmanın üç katı alınır ve ölçüm yapılan en küçük değer eklenir (ölçümü yapılan en küçük değer + (3 x standart sapma) = ODc), böylece ODc değeri tespit edilmiş olur. Kuyucuklardan elde edilen optik değerler ODc değerinden büyükse biyofilm pozitif, küçükse biyofilm negatif olarak kabul edilir (Şekil 3.9).

SUŞ NO	%2,5 G	AE 1	AE 2	AE 3	AE 4	AE 5	AE 6	AE 7	AE 8	AE 9	AE 10	AE 11
OPTİK DEĞER	0,62	1,105	0,898	0,609	0,48	0,451	0,887	0,754	0,912	3,869	0,283	0,529
SUŞ NO	AE 23	AE 22	AE 21	AE 20	AE 19	AE 18	AE 17	AE 16	AE 15	AE 14	AE 13	AE 12
OPTİK DEĞER	0,61	1,098	0,919	0,892	0,724	0,669	0,593	0,628	0,656	0,498	0,453	0,767
SUŞ NO	AE 24	AE 25	AE 26	AE 27	AE 28	AE 29	AE 30	AE 31	AE 32	AE 33	AE 34	AE 35
OPTİK DEĞER	1,017	0,698	0,952	0,93	2,018	0,528	1,082	2,564	0,442	3,889	1,882	0,634
SUŞ NO	AE 47	AE 46	AE 45	AE 44	AE 43	AE 42	AE 41	AE 40	AE 39	AE 38	AE 37	AE 36
OPTİK DEĞER	0,901	0,432	0,921	0,545	1,937	0,569	0,554	0,601	0,531	1,338	0,918	0,787
SUŞ NO	AE 48	AE 49	AE 50	AE 51	AE 52	AE 53	AE 54	AE 55	AE 56	AE 57	AE 58	AE 59
OPTİK DEĞER	0,941	0,687	1,069	0,529	1,007	0,462	3,278	1,004	1,979	0,724	0,989	1,307
SUŞ NO	AE 71	AE 70	AE 69	AE 68	AE 67	AE 66	AE 65	AE 64	AE 63	AE 62	AE 61	AE 60
OPTİK DEĞER	0,875	0,355	0,745	1,334	0,819	0,643	0,929	1,415	1,498	0,658	0,508	1,088
SUŞ NO	AE 72	AE 73	AE 74	AE 75	AE 76	AE 77	AE 78	AE 79	AE 80	AE 81	AE 82	AE 83
OPTİK DEĞER	0,765	0,337	1,134	1,01	2,936	0,636	1,713	2,135	0,885	0,959	0,695	2,589
SUŞ NO	AE 95	AE 94	AE 93	AE 92	AE 91	AE 90	AE 89	AE 88	AE 87	AE 86	AE 85	AE 84
OPTİK DEĞER	0,7	0,68	0,905	1,157	1,012	1,391	1,379	0,818	0,757	1,571	1,411	1,345

SUŞ NO	%2,5 G	AE 96	AE 97	AE 98	AE 99	
OPTİK DEĞER	0,108	0,616	1,379	1,654	0,808	
SUŞ NO	AE 100	AE 101	AE 102	AE 103	AE 104	
OPTİK DEĞER	0,354	0,265	0,99	0,701	0,366	
SUŞ NO	AE105	AE106	AE107	AE108	AE109	
OPTİK DEĞER	1,858	0,487	1,675	1,045	0,934	
SUŞ NO	AE 110	AE 111	AE 112	AE 113	AE 114	
OPTİK DEĞER	1,7	0,66	0,313	0,599	0,988	
SUŞ NO	AE 115	AE 116	AE 117	AE 118	AE 119	
OPTİK DEĞER	0,445	0,249	2,641	3,395	0,868	
SUŞ NO	AE 120	AE 121	AE 122	AE 123	AE 124	
OPTİK DEĞER	0,603	0,3	0,838	0,902	3,376	
SUŞ NO	AE 125	AE 126	AE 127	AE 128	AE 129	
OPTİK DEĞER	0,693	0,49	2,999	0,859	0,471	
SUŞ NO	AE 130	AE 131	AE 132	AE 133	AE 134	AE 135
OPTİK DEĞER	0,614	0,534	2,89	1,753	0,7	0,638

Şekil 3.8. *E. coli* suşlarının kristal viyole yöntemi sonunda plak okuyucuda 550 nm dalga boyunda belirlenen optik dansite (OD) değerleri.

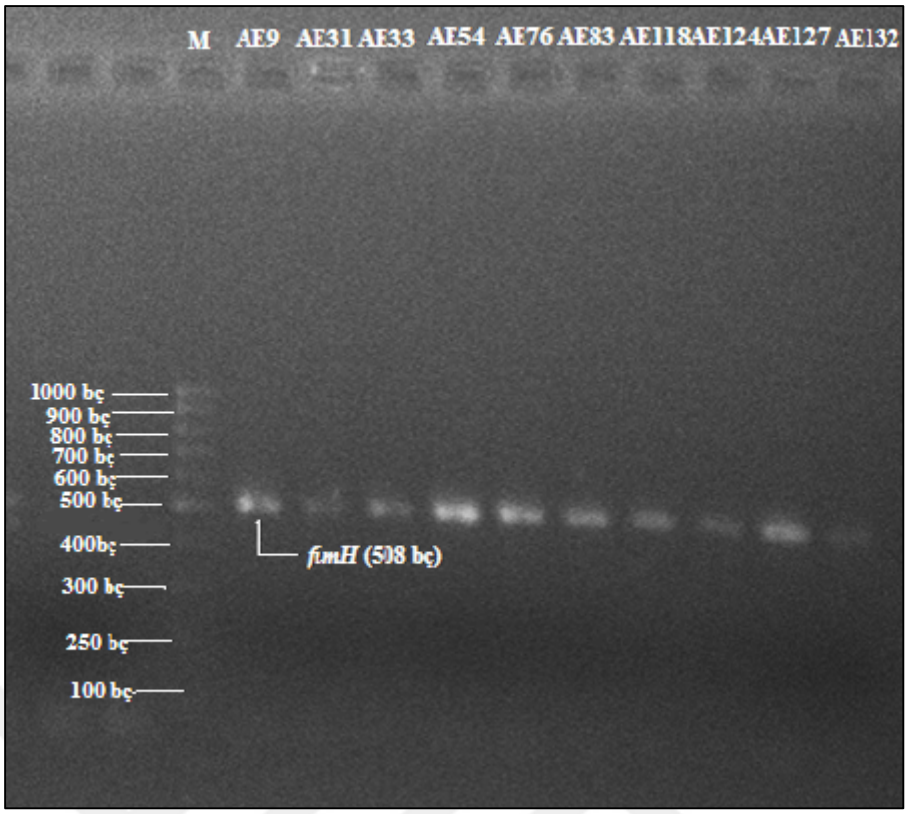
Şekil 3.9' da verilen 1. mikrotitrasyon plağının değerleri görüldüğü üzere en küçük değer -0,337 olarak tespit edildi ve tüm değerlerin standart sapması 0,6937 olarak alındı. Yukarıda verilen formüle göre hesaplanıp ODc'si 1,7441 olarak bulundu. Şekil 3.9' de verilen 2. mikrotitrasyon plağının değerleri görüldüğü üzere en küçük değer 0,141 olarak tespit edilmiş ve standart sapması 0,8794 olarak alınmış olup yukarıda verilen formüle göre hesaplanıp ODc'si 2,7792 olarak bulundu.

SUŞ NO	%2,5 G	AE 1	AE 2	AE 3	AE 4	AE 5	AE 6	AE 7	AE 8	AE 9	AE 10	AE 11
OPTİK DEĞER		0,485	0,278	-0,011	-0,14	-0,169	0,267	0,134	0,292	3,249	-0,337	-0,091
SUŞ NO	AE 23	AE 22	AE 21	AE 20	AE 19	AE 18	AE 17	AE 16	AE 15	AE 14	AE 13	AE 12
OPTİK DEĞER	-0,01	0,478	0,299	0,272	0,104	0,049	-0,027	0,008	0,036	-0,122	-0,167	0,147
SUŞ NO	AE 24	AE 25	AE 26	AE 27	AE 28	AE 29	AE 30	AE 31	AE 32	AE 33	AE 34	AE 35
OPTİK DEĞER	0,397	0,078	0,332	0,31	1,398	-0,092	0,462	1,944	-0,178	3,269	1,262	0,014
SUŞ NO	AE 47	AE 46	AE 45	AE 44	AE 43	AE 42	AE 41	AE 40	AE 39	AE 38	AE 37	AE 36
OPTİK DEĞER	0,281	-0,188	0,301	-0,075	1,317	-0,051	-0,066	-0,019	-0,089	0,718	0,298	0,167
SUŞ NO	AE 48	AE 49	AE 50	AE 51	AE 52	AE 53	AE 54	AE 55	AE 56	AE 57	AE 58	AE 59
OPTİK DEĞER	0,321	0,067	0,449	-0,091	0,387	-0,158	2,658	0,384	1,359	0,104	0,369	0,687
SUŞ NO	AE 71	AE 70	AE 69	AE 68	AE 67	AE 66	AE 65	AE 64	AE 63	AE 62	AE 61	AE 60
OPTİK DEĞER	0,255	-0,265	0,125	0,714	0,199	0,023	0,309	0,795	0,878	0,038	-0,112	0,468
SUŞ NO	AE 72	AE 73	AE 74	AE 75	AE 76	AE 77	AE 78	AE 79	AE 80	AE 81	AE 82	AE 83
OPTİK DEĞER	0,145	-0,283	0,514	0,39	2,316	0,016	1,093	1,515	0,265	0,339	0,075	1,969
SUŞ NO	AE 95	AE 94	AE 93	AE 92	AE 91	AE 90	AE 89	AE 88	AE 87	AE 86	AE 85	AE 84
OPTİK DEĞER	0,08	0,06	0,285	0,537	0,392	0,771	0,759	0,198	0,137	0,951	0,791	0,725

SUŞ NO	%2,5 G	AE 96	AE 97	AE 98	AE 99	
OPTİK DEĞER		0,508	1,271	1,546	0,7	
SUŞ NO	AE 100	AE 101	AE 102	AE 103	AE 104	
OPTİK DEĞER	0,246	0,157	0,882	0,593	0,258	
SUŞ NO	AE105	AE106	AE107	AE108	AE109	
OPTİK DEĞER	1,75	0,379	1,567	0,937	0,826	
SUŞ NO	AE 110	AE 111	AE 112	AE 113	AE 114	
OPTİK DEĞER	1,592	0,552	0,205	0,491	0,88	
SUŞ NO	AE 115	AE 116	AE 117	AE 118	AE 119	
OPTİK DEĞER	0,337	0,141	2,533	3,287	0,76	
SUŞ NO	AE 120	AE 121	AE 122	AE 123	AE 124	
OPTİK DEĞER	0,495	0,192	0,73	0,794	3,268	
SUŞ NO	AE 125	AE 126	AE 127	AE 128	AE 129	
OPTİK DEĞER	0,585	0,382	2,891	0,751	0,363	
SUŞ NO	AE 130	AE 131	AE 132	AE 133	AE 134	AE 135
OPTİK DEĞER	0,506	0,426	2,782	1,645	0,592	0,53

Şekil 3.9. ODc hesaplaması yapılmış biyofilm (+) ve negatif (-) suşlar.

Bu değerlendirmeye göre (Şekil 3.9); AE 9 numaralı suştan elde edilen ODc değeri 3,249, AE 31 numaralı suşta 1,944; AE 33 numaralı suşta 3,269; AE 54 numaralı suşta 2,658; AE 76 numaralı suşta 2,316; AE 83 numaralı suşta 1,969; AE 118 numaralı suş için elde edilen değer 3,287; AE 124 numaralı suş için 3,268; AE 127 numaralı suş için 2,891, AE 132 numaralı suştan hesaplanan ODc değeri ise 2,782 olarak belirlendi. Biyofilm pozitif olarak belirlenen suşların genotipte *fimH* genini içerip içermediğinin kontrolü ise PZR reaksiyonu ile ortaya koyuldu. Çalışmadan elde edilen sonuç Şekil 3.10'da verildi.



Şekil 3.10. Fenotipik olarak biyofilm ürettiği doğrulanan suşların (AE9, 31, 33,,54,76,83,118,124,127,132) *fimH* geni varlığını gösteren jel görüntüsü. Gene Ruler Ladder büyüklük markeri olarak kullanldı (SM0371, Fermentas).

Bu analiz sonucuna göre biyofilm pozitif suşların, biyofilm oluşumunda önemli bir virülans faktörü olan *fimH* (508 bç) geni yönünden pozitif olduğu doğrulandı.

Biyofilm üretebilen 10 adet suş tespit edildi ve antibiyotik direnç profili şu şekilde belirlendi. AE 132 ve AE 118 numaralı suşlar hiçbir antibiyotiğe direnç göstermedi ve antibiyotiklerin tamamına karşı duyarlı oldukları gözlemlendi. AE 33 numaralı suşta sadece 1 antibiyotiğe direnç tespit edildi. AE 127 ve AE 31 numaralı suşlar 4 antibiyotiğe direnç geliştirmiş, AE 31 hem biyofilm hemde GSBL üretebilen tek suş olarak tespit edildi. AE 9 ve AE 76 numaralı suşlar 13 antibiyotiğe dirençliyken, AE 83 numaralı suşta 14 antibiyotiğe karşı direnç belirlenmiş ve son olarak ta AE 54 ve AE 124 numaralı suşlar 15 antibiyotiğe direnç sergilemiştir (Tablo 3.2)

4. TARTIŞMA

Enterobacteriaceae ailesi üyeleri, İYE vakalarında izole edilen bakterilerin %90'ından fazlasını oluşturur. Ayrıca, enterobakteriler, diğer bakteri türlerinden ve parazitlerden farklı olarak insanların normal bağırsak mikrobiotasının bir parçasıdır. Ek olarak, enterobakteriler, İYE'ler de dahil olmak üzere son yıllarda insan enfeksiyonlarında en çok etkin rol üstlenen bakteri türleridir. Bu çok yüksek oran; enterobakterilerin enfekte olmuş dokularla etkileşimine bağlıdır. Bu etkileşim, basit bir bağlanma ile başlayabilir, istila ve hücre lizisine kadar uzanır. Bu etkileşimler, mikroorganizmaların patojenitede etkili bazı aktif maddelerin sentezine neden olur. Bu bakterilerin patojenisitesi, fimbria, O antijenleri, K kapsüler antijenleri, serum direnci, hemoliz üretimi ve diğerleri yoluyla operatif adezinler gibi çoklu virülans genlerinin varlığına bağlıdır. İYE antibiyotiklerle tedavi edilebilir; bununla birlikte, bakterilerin antibiyotiklere karşı çoklu direnç mekanizması İYE'nin yönetimi için bir tehdittir (Dougnon ve ark 2020).

Dünyada yapılan çeşitli çalışmalar, en yaygın direnç mekanizmalarını geliştiren Gram-negatif basilleri sorunun kaynağı olarak göstermektedir (Paterson ve Bonomo 2005). Bir sonraki husus ise birinci, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinleri inaktive eden geniş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) olarak adlandırılan enzimlerin üretilmesiyle, beta-laktam antibiyotiklerin çoğuna karşı yüksek düzeyde kazanılmış direnci ifade eder (Spanu ve ark 2002). Bakteriyel direnç ayrıca karbapenemler, penisilinler, aminoglikozitler, kinolonlar ve diğerleri gibi antibiyotik aileleriyle de ilgilidir. Bu enzimleri kodlayan genler plazmit kaynaklı ve diğer antibiyotiklere direnç için genlerle bir arada bulunur, bu nedenle geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten enterobakterilerin çoklu direncinin kaynağıdır (Simon ve ark 2007). Enterobakterilerin betalaktaminlere karşı bu çoklu direnci, ilaç fabrikasında son çare olan klinik çalışmalarda karbapenemlerin reçetelenmesine yol açmıştır. Karbapenemlerin piyasaya sürülmesi, bu antibiyotikleri etkisiz hale getiren bakteriler tarafından üretilen bir enzim olan karbapenemazların üretimini desteklemiştir. (Paterson ve Bonomo 2005). *Enterobacteriaceae*'nin bu çoklu antibiyotik direnci sorunu gelişmekte olan ülkelerde daha belirgindir ve İYE'ler de dahil olmak üzere pek çok klinik tabloya yol açmaktadır.

Gram-negatif patojenlerde antibiyotik direnci, daha yüksek sağlık maliyetleri ve ölüm oranları, tedavi başarısızlıkları ve daha uzun bir klinik hastalık süresine katkıda bulunan küresel bir endişedir. Pek çok bakteriyel enfeksiyon antibiyotiklerle tedavi edildiğinden, birçok bakteri antibiyotiklerin öldürme mekanizmasına direnmenin yollarını geliştirmiştir. *E. coli* için, antibiyotiklerin aşırı kullanımı ve yanlış kullanımından dolayı antibiyotik direnci daha yaygın hale gelmiştir. Dahası, *E. coli*, sadece birbirleriyle değil, aynı zamanda insan ve hayvanların diğer enterik patojenleri ile verimli bir şekilde değiştirilen direnç genlerinin rezervuarları olarak da hizmet edebilir (Van den Bogaard ve ark 2001). Dünya çapında, geniş spektrumlu β-laktamaz veya karbapenemaz enzimleri üreten *Enterobacteriaceae* prevalansı endişe verici oranlarda artmaya devam etmektedir (Zowawi ve ark 2015). Komensal *E.coli*'de direnç prevalansı, insanlardan ve çevreden gelen bakteri izolatlarında antibiyotik direncinin yararlı bir göstergesi olduğundan, *E. coli*'nin antibiyotik direncinin rutin olarak izlenmesi antibiyotik tedavisi ve direnç kontrolü için veri sağlar (OBrien 1997).

Bu çalışmada İYE'lerden izole ve identifiye edilmiş 135 *E. coli* suşunun 20 farklı antibiyotiğe karşı direnç ve duyarlılıkları, GSBL enzim varlığının fenotipik ve genotipik tespiti ve virülansta önemli bir faktör olan biyofilm oluşturma özelliklerinin fenotipik ve genotipik tespitleri yapıldı. Elde edilen veriler doğrultusunda suşların antibiyotiklere direnci en yüksek oranda Ampisiline %50,4; ikinci sırada Tetrasikline %40,7; üçüncü sırada Nalidiksik asite %40; dördüncü olarak Ofloksasin ve Moksifloksasine %31,1; beşinci sırada Amoksisilin-klavulanik asit ve Siprofloksasine %28,9; altıncı sırada ise Norfloksasine %27,4 oranında belirlendi (Şekil 3.1). Suşların tamamı bir karbapenem olan Meropeneme karşı duyarlı olarak belirlenirken bunu ikinci sırada yine bir karbapenem olan imipenem %1,48 ve üçüncü sırada aminoglikozit bir antibiyotik olan Amikasinin %2,2 gibi bir oranla takip ettiği görüldü. Elde edilen veriler doğrultusunda suşların özellikle karbapenem grubu ve aminoglikozit grubu antibiyotiklere kinolon gruplarından daha duyarlı oldukları söylenebilir. Benzer şekilde çalışmamızda kullanılan ikinci (sefuroksim), üçüncü (sefotaksim ve seftazidim) ve dördüncü (Sefepim) kuşak sefalosporinlerin yine kinolon grubu antibiyotiklerden daha etkili olduğu düşünülebilir (Tablo 3.1).

Suşların hangi antibiyotiklere tekli ya da çoklu dirençli olduğunu belirlemek amacı ile direnç profili (rezisto tip) tablosu oluşturuldu (Tablo 3.2). Bu tabloya göre

en az bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç gösteren 88 suş (toplam suşların %65,18'i) içerisinde 69 farklı direnç tipi (rezisto tip) belirlendi. Bunların pek çoğunun sadece birer suş ile temsil edildiği görüldü. En fazla suş ile temsil edilen rezisto tip iki antibiyotiğe dirençli ve dört suş ile rezisto tip 11 olmuştur. On antibiyotiğe direnç gösteren rezisto tip 53 iki suş ile temsil edilirken; 14 antibiyotiğe direnç gösteren rezisto tip 62 iki suş; 15 antibiyotiğe direnç gösteren rezisto tip 66 ise üç suş ile temsil edildi. Suşlar arasında sadece bir suş 16 antibiyotiğe direnç gösterilen rezisto tip 69 profilini gösterdi. Çalışmamızda kullanılan suşlar arasında 69 farklı direnç profilinin görülmesi direnç yönünden suşların oldukça geniş bir spektrum ortaya koyduğunun bir göstergesidir. Uysal ve ark (2018) tarafından yapılan çalışmada 97 UPEC suşunda 44 farklı direnç profili belirlenmiştir. Mevcut çalışmamızda bu direnç profili sayısı araştırmacılarınkinden daha fazla görüldü. Ayrıca Tablo 3.2'de çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi değerleri de Krumperman (1983)'a göre hesaplandı. Buna göre; ÇAD indeksi 0,2 değerinden büyük olan suşların, dirençli oldukları antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı bölgelerden geldiği savunulmaktadır. Çalışmamızdaki ÇAD indeksi 0,2 den daha büyük suş sayısının 53 adet olduğu görülmüştür. Dirençli 88 suşun 53'ü yani yani %60,22'si en az beş en fazla 16 antibiyotiğe direnç göstermiş ve bu antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı bölgelerden geldiği düşünülmüştür. Bu durum ise kontrolsüz ve bilinçsiz antibiyotik kullanımının bir göstergesi olabilir.

Yapılan bir çalışmada Bijapur ve ark (2015), *E. coli* suşlarında direnç oranlarını ampisilin %91,66; sefuroksim %82,29; sefotaksim %79,16; siprofloksasin %75 şeklinde belirlemiştir. Bununla birlikte, imipenem ve meropeneme karşı herhangi bir direnç belirlememiştir. Çalışmamızdan elde edilen verilerle (%50,4 ampisilin, %25,2 sefuroksim, %20,7 sefotaksim, %28,9 siprofloksasin) kıyaslandığında araştırmacının direnç oranları çalışmamızda tespit edilenlere göre oldukça yüksek olarak düşünüldü. Ayrıca çalışmamızdaki suşlarda meropenem ve imipeneme direnç hususunda benzer değerler ortaya koydu. Kudinha ve ark (2013) 953 *E. coli* izolatının %47,63'ünün tetrasikline ve %33,47'sinin sefalotine dirençli olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca araştırmacılar, toplam izolatların %6.4'ünün GSBL üreten suşlar olduğunu belirlediler. Ancak çalışmamızda GSBL üreten suşların oranı %11,8 ile araştırmacının sonuçlarından yüksek bulunurken tetrasikline karşı direnç (%40,7) araştırmacıların sonuçlarıyla oldukça uyum gösterdi. Lu ve ark (2012), İYE'den izole edilen toplam 1762 *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi suşun (995 *E coli* suşları) Asya / Pasifik

Bölgesindeki antibiyotiklere yatkınlıkları açısından değerlendirildiğini ve amikasinin suşlara en fazla etkili antimikrobiyal ajan olduğunu belirlemiştir. Bu izolatlar sefotaksim, seftriakson, seftazidim, sefepim, siprofloksasin ve levofloksasine (<%70) daha az duyarlıdır. Ayrıca suşlar içerisinde GSBL üretim oranını %67 olarak saptamıştır. Bu oran çalışmamızdan elde edilen %11,8 nın yaklaşık 5,7 katıdır. Çalışmamızda ise 135 *E. coli* suşuna karşı en etkili ajanların sırasıyla meropenem, imipenem ve amikasin onu takiben de ertapenem olduğu belirlendi. Bu verilere göre mevcut çalışmamızda suşların karbapenem grubu antibiyotiklere daha duyarlı oldukları sonucuna varılabilir. Uysal ve ark (2018) tarafından yapılan bir çalışmada 97 UPEC suşunun kullanılan antibiyotikler arasında en fazla sefalotine (%54,6), sırasıyla tetrasikline (%53,6), nalidiksik asite (%44,3), azteronam ve ofloksasine (%29,8) karşı dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca suşların %13,4 oranında GSBL ürettiğini ve bu üretilen enzimler için suşlardan ikisinin blaCTX-M, altısının blaTEM, beşinin blaOXA ve birinin ise hem blaTEM hem de blaSHV genleri yönünden pozitif olduklarını ortaya koymuşlardır. Mevcut çalışmamız değerlendirildiğinde suşlarımızın araştırmacıların bulduğu nalidiksik asit ve ofloksasin dirençlerine oldukça yakın oranlar ortaya koyduğu görüldü. GSBL üreten suş oranları ile kıyaslandığında ise oldukça yakın bir oran belirlendi (%11,8). GSBL pozitif suşlardan biri hariç 15'inin blaTEM, beş suşun blaTEM ve blaOXA, iki suşun ise blaCTX-M ve blaTEM genlerini birlikte bulundurduğu görüldü. blaTEM geni ağırlıklı olarak görülmesine rağmen blaSHV genine rastlanmadı. Başka bir çalışmada Rehab ve ark (2019) toplam 168 *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşunda 113'ünde GSBL pozitifliğini fenotipik olarak belirlemişler ve bu suşların da %95,58'inin genotipik olarak da blaTEM, blaSHV ve blaCTX-M genleri taşıdığını saptamışlardır. Suşların antibiyotik direnç oranlarının ise en fazla olarak üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı gösterildiği; ayrıca en fazla duyarlılığın ise meropenem ve imipeneme karşı gösterildiğini vurgulamışlardır. Van Driel ve ark (2019) yaptıkları çalışmada idrar yolları enfeksiyonundan izole edilen suşların %83'ünden *E. coli* suşlarının sorumlu olduğunu belirtmişler ve 2004-2009-2014 yılları arasında her 5 yılda bir yapılan antibiyotik duyarlılık durumlarını mevcut çalışmaları ile kıyaslamışlardır. Antibiyotik duyarlılığı bakımından suşların siprofloksasin dışında zaman içinde stabil olduğunu (2004'te %96, 2009'da %97 ve 2014'te %94; P <0,05); ko-amoksiklav duyarlılığı 2004, 2009 ve 2014 yıllarında sırasıyla %88, %87 ve %92 şeklinde yükseldiğini; GSBL üreten *E. coli* prevalansı 2004'te %0,1'den 2014'te %2,2'ye yükseldiğini rapor etmişlerdir. Test edilen çoğu

antimikrobiyal ajana duyarlılık yüzdeleri, *E. coli* ve GSBL'lerin prevalansı önemli ölçüde artmasına rağmen, 10 yıllık süre boyunca stabil olduğunu ortaya koymuşlardır. Lübnan'ın Beyrut kentinde gebe kadınlardan izole edilen GSBL üreten bakterileri fenotipik ve genotipik karakterizasyonlarını incelemek ve GSBL kolonizasyonunun araştırıldığı bir çalışmada Gaddar ve ark (2020) 59 *E. coli* suşunun çoğu, %93,2'lik bir duyarlılık ile meropenem ve imipeneme karşı oldukça duyarlı bulunmuştur. En fazla direnç aztreonam, sefepim ve sulfometaksazole karşı belirlenmiştir. Ayrıca GSBL genlerinden blaCTX-M baskın gen (%90,7), ardından blaTEM (%88,4) ve son olarak blaSHV (%44,2) yer almıştır ve yapılan çalışmadaki gebe kadınlarda GSBL taşıyıcılığı yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde çalışmamızda kullanılan suşlar meropenem ve imipeneme oldukça duyarlıdır fakat aztreonam direnci ise araştırmacıların sonuçlarına göre oldukça düşük bulunmuş; GSBL sonuçlarımızda ise baskın gen blaTEM (%93,75) olarak tespit edilmiştir ve PZR çalışması yapılan suşların 15'inde görülmüştür. Sadece bir suş fenotipte GSBL pozitif olmasına rağmen çalışılan gen gruplarıyla sonuç vermemiştir. Bu durumda suşun farklı bir GSBL geni tarafından ifade edildiği söylenebilir. Ugwu ve ark (2020) 100 üropatojen üzerinde yaptıkları bir çalışmada 58 *E. coli* izolatında baskın GSBL geninin blaTEM olduğunu ve en çok direnç gösterilen antibiyotiğin kotrimaksazol; en duyarlı oldukları antibiyotiklerin ise aztreonam ve seftazidim olduğunu rapor etmişlerdir. Baskın GSBL geninin blaTEM olması yönünden sonuçlarımız araştırmacıların sonuçları ile uyumlu olduğu öne sürülebilir. Fakat çalışmamızdaki kinolon direnci araştırmacıların sonuçlarından daha yüksek bulunmuştur.

Avrupa'da yapılan sürveyans çalışmaları 2018 raporuna göre; Avrupa ülkelerinde üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı en yüksek direnç sıralamasında Bulgaristan %38,7; Kıbrıs %37,1; Slovakya %30,1; İtalya %28,7; Romanya %20,2 oranları ile ön sıralarda yer almaktadır. En düşük direnç sıralamasında ise Norveç %6,8; Hollanda %7,3; Finlandiya %7,6; Danimarka %7,7; İzlanda %8,1;İsviçre %8,3; Belçika %9; Fransa %9,6; Birleşik Krallık %11; Almanya da ise %12,2 oranında direnç bulunmuştur (ECDC 2019). Mevcut çalışmamızda ise üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç %18,5-20,7 arasında bulunmuştur. Aynı raporun 2013 versiyonunda ise Türkiye direnç noktasında %42'lik bir oranda en ön sırada yer almaktadır.

Florokinolon grubu antibiyotiklere Avrupa ülkelerinde en fazla direnç; Kıbrıs %42,4; Slovakya %42,1; Malta %41,9; Bulgaristan %41,8; İtalya%41,7 ile sıralanırken en az dirence sahip ülkeler Finlandiya %11,4; Norveç % 12,9; Danimarka %13,3; Hollanda %14,9 ve Fransa %16,3 şeklinde yer almaktadır (ECDC 2019). Çalışmamızda florokinolon grubundan olan ofloksasin %31,1; siprofloksasin %28,9; norfloksasin ise %27,4 oranında direnç yüzdesine sahiptir. Bu durum, bu tabloda orta sıranın sonlarında yer almamıza neden olmaktadır. Türkiye 2013 raporunda yine %52'lik oranla birinci sırada yer almaktadır (Allocati ve ark 2013). Aminoglikozit gruplarında görülen direnç en fazla Bulgaristan %28,4; Slovakya %21,6; Kıbrıs %19,9 oranlarında görülürken en az oranlarda Finlandiya, Norveç ve Danimarka'da belirlenmiştir (sırasıyla %4,3, %5,7, %5,7). Çalışmamızda amikasine %2,2; kanamisine %17; gentamisine %20,7 oranında direnç gelişmiştir (Tablo 3.1). Aminoglikozitlere direnç yönünden kıyaslandığında 2013 raporunda Türkiye %35'lik bir oranla birinci sırada yer almaktadır (Allocati ve ark 2013).

GSBL üretimi bakımından dünya geneline bakıldığında 2010 öncesi ve 2010'dan sonraki son 10 yıl içerisinde GSBL oranlarının arttığı görülmüştür. Buna göre İYE enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarında belirlenen GSBL oranları Birleşik Krallıkta %4,6'dan %6,6 oranına; Fransa'da %1,1'den %3,3 oranına; İspanya'da %2,4-18,2'den %8,9-23,69 oranına yükselmiştir. Akdeniz ülkelerinden İtalya'da %3,5'den %6,7 oranına; Türkiye'de ise %8-13,1'den %24 oranına ulaşmıştır. Güney Asya ülkelerinde %27,1'den %33,2'ye; Uzakdoğu Asya'da %4,8-7,5'den %7,6-10,7'ye; Latin Amerika ülkelerinde %1,7'den %7,1-12,5 oranına; Amerika ve Kanada'da ise %7,4'den %1,8-8 oranı arasında değiştiği bildirilmiştir (Lee ve ark 2018). Mısır'da ise GSBL oranı *E. coli* suşlarında %59,7 olarak saptanmıştır (Hassuna ve ark 2020).Yapılan çalışmalar dünya genelinde GSBL üreten *E. coli* suşlarının arttığını göstermektedir.

Türkiye'de, 2007-2018 döneminde GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin oranı açısından değerlendirildiğinde; Azap ve ark (2010) GSBL üretim oranını %11;Yilmaz ve ark (2009) %20,2; Kizilca ve ark (2012) % 43; Azap ve ark (2013) %23,5, Aladag ve ark (2013) %55; Khorshed ve Arslan (2015) %20,75; Yılmaz ve ark (2016) %24; Uysal ve ark (2018) %13,40 olarak rapor etmişlerdir. Mevcut

çalışmamızda ise GSBL üretim oranı %11,8 olarak belirlenmiş ve diğer araştırmacıların sonuçlarından daha düşük bir oran olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda GSBL genleri açısından en baskın gen blaTEM olarak belirlendi ve 16 GSBL pozitif suşun 15'i (%93,5) bu geni taşıdığı saptandı. Ayrıca bu gen ile bilikte beş suşta blaOXA, iki suşta ise blaCTX-M bulundurduğu görüldü. Bazı beta laktamaz genlerinin varlığı bildirilmiştir, ancak blaTEM, blaSHV, blaOXA ve blaCTX-M tipi GSBL genleri en baskın olanıdır (Bordford 2001). Kiratisin ve ark (2008) blaCTX-M, blaTEM ve blaSHV genlerinin, *E. coli* üreten 235 GSBL suşunda %87,3, %77 ve %3,8 oranlarıyla ifade edildiğini ortaya koymuştur. Birkaç suşun blaOXA genini taşıdığı belirtilmiştir. CTX-M geninin Avrupa'da TEM ve SHV genleri yerine en sık GSBL geni olduğu bildirilmiştir. PER, GES, IBC ve bazı OXA türleri gibi diğer GSBL türleri de mevcuttur. GSBL üretimi Avrupa'da Latin Amerika ve Asya'da olduğundan çok daha az ve Pasifik'te Kuzey Amerika'dakinden daha az sıklıkta görülmektedir (Coque ve ark 2008, Ruppé 2010). Norveç ve Portekiz'de CTX-M, *E. coli*'de en sık bulunan GSBL enzimidir (Sana ve ark 2011). Mısır'da Hassuna ve ark (2020) İYE'ye neden olan *E. coli* suşlarında blaTEM oranını %75, blaCTX-M oranını %56,25 ve blaSHV oranını ise %18,75 olarak belirtmiştir. Mevcut çalışmamızda da en baskın genin blaTEM olması yönünden sonuçlarımız uyumlu bulunmuştur.

Türkiye'de Bali ve ark (2010) 65 GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinde blaTEM, blaSHV, blaCTX-M oranlarının %73,43, %21,87 ve %17,18 olduğunu göstermiştir. Gorgec ve ark (2015) *E. coli* izolatları arasında blaCTX-M, blaTEM, blaOXA-*2* grubu, PER, SHV ve OXA-10 grubu beta-laktamaz genlerinin sıklığını sırasıyla %89,5, %59,2, %15,8, %14,5, %11,8 ve %3,9 bulmuştur. Khorshed ve Arslan (2015) 106 *E. coli* izolatından 22'sinin (%20,75) GSBL için fenotipik olarak pozitif olduğunu bildirirken, *E. coli* izolatlarının 63'ünün (%59,43) multipleks PZR ile GSBL için pozitif olduğu belirlenmiştir. Uysal ve ark (2018) blaCTX-M, blaTEM, blaOXA, blaSHV gen yüzdelerini sırasıyla %15,38, %46,1, %38,4 ve %7,7 olarak rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmamızda ise blaTEM %93,5, blaOXA %31,25 ve blaCTX-M %12,5 oranında belirlenmiştir. blaTEM ve blaOXA oranlarımız diğer araştırmacıların değerlerine göre yüksek olarak görülmüştür.

Biyofilm oluşturma yeteneği *E. coli* suşlarının virülansında oldukça önemli bir faktördür. Biyofilm oluşumu, yüzeye ilk bakteriyel yapışmayı, ardından hücre toplanmasına neden olan hücre dışı polimerik matrisin çoğalmasını ve üretimini içerir. UPEC suşları, katı yüzeylere tutunma ve biyofilm oluşumu için çeşitli adezinler üretebilir. Bakteriyel yapışma ve biyofilm oluşumunu teşvik edebilecek tip 1 fimbria, konakçı hücre yüzeyinin glikoprotein molekülleri üzerinde doğal olarak sunulan mannozoligosakkaritleri tanır. Tip 1 fimbrialar, fim gen kümesi tarafından kodlanır ve FimF ve FimG yardımcı proteinleri ve yapışma proteini FimH ile ilişkili büyük bir protein, FimA'dan oluşur. P fimbrialar UPEC ile ifade edilir ve bakterilerin böbreği kolonize etme ve piyelonefrite neden olma kabiliyeti ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Pap gen kümesi, fimbria çubuğunun (PapA) ana bileşenini kodlayan 11 genden, adaptör alt birimlerini kodlayan papEF'den ve PapG'nin bir terminalinden oluşur (Zamani ve Salehzadeh 2018). Çalışmamızda 135 *E. coli* suşunun biyofilm oluşturma yeteneği kristal viyole boyama yöntemi ile fenotipik olarak değerlendirilmiştir. Buna göre test edilen 135 suşun içerisinde sadece 10 suşun (%7,4) biyofilm pozitif olduğu belirlenmiştir. Biyofilm pozitif suşlar; tip1 fimbriada buluan *fimH* yapışma proteini yönünden de moleküler olarak değerlendirilmiştir. Buna göre biyofilm pozitif 10 suşun tamamının *fimH* geni bulundurduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.10). Bu durum *E.coli* suşlarımızda görülen biyofilm oluşturma yetenekleri ile adezyon faktör genleri arasında doğrudan bir ilişki olduğu söylenebilir. Biyofilm pozitif suşların antibiyotik direnç oranlarına bakıldığında AE33 nolu suş tek bir antibiyotiğe; AE31 ve AE127 nolu suşlar dört antibiyotiğe; AE9 ve AE76 nolu suşların 13 antibiyotiğe; AE83 nolu suşun 14 antibiyotiğe; AE54 ve AE124 nolu suşların ise 15 antibiyotiğe dirençli oldukları belirlenmiştir. Bunlar arasında AE 31 nolu suşun aynı zamanda GSBL geni olan blaTEM taşıdığı görülmüştür. AE118 ve 132 nolu suşlar ise bütün antibiyotiklere duyarlı olarak saptanmıştır. Bu durumda fenotipte biyofilm pozitif olan ve adezyon geni olan *fimH* yönünden pozitif olan suşlarımızın büyük bir çoğunluğunun (%80) antibiyotiklere dirençli olduğu söylenebilir. Bu antibiyotik direncinin ise İYE tedavilerinde tedaviyi zorlaştırabileceği düşünülmüştür. Mikrobiyal patogenezin daha iyi anlaşılması yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesini kolaylaştıracaktır. İYE'lerden izole edilen UPEC suşları arasında adezyon faktör geni *fimH* ile biyofilm oluşumu arasındaki olası ilişki aydınlatılmıştır. Farklı yüzeylere yapışabilme ve biyofilm oluşumu *E. coli* virülansı ile ilişkili önemli özellikler olarak vurgulanmıştır.

Daha önce yapılmış bazı çalışmalarda biyofilm oluşturma yeteneği ve İYE birlikteliği bildirilmiştir (Soto ve ark 2007, Naves ve ark 2008, Zamani ve Salehzadeh 2018). Biyofilm oluşumu, bakterileri hidrodinamik kuvvetlerin, antibakteriyel ajanların ve konakçı savunma mekanizmalarının temizleme etkisinden koruyarak üriner sistemdeki bakteriyel kalıcılığı arttırır. Tip 1 fimbria ekspresyonu, çevresel faktörler ve izolatların genetik geçmişi dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenebilir. Çeşitli çevresel faktörler ve bakteriyel filogenetik grup ve konakçı ile ilişkili faktörler bakteri gen ekspresyonunu düzenleyebilir ve böylece UPEC suşlarının farklı genotipik ve fenotipik özelliklerine yol açabilir (Naves ve ark 2008). Yapılan bir araştırmada Tajbakhsh ve ark (2016) idrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *130 E. coli* izolatının biofilm oluşumunu, antibiyotik duyarlılıklarını ve virulans genlerini incelemişler; 80 izolatın (%61,53) biyofilm oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Biyofilm oluşturan izolasyonlar arasında en yüksek direnç Ampisiline (%87,5) ve en düşük direnç ise Nitrofurantoin'e (%3,75) karşı saptanmıştır. Güçlü biyofilm oluşturma kabiliyetine sahip izolasyonlarda *fimH, pap, sfa ve afa* genlerinin sıklığı sırasıyla %93,33, %86,66, %86,66 ve %66,66 olarak bildirilmiştir. Wang ve ark (2016) 256 *E. coli* suşunun antibiyotik direnci ve biyofilm oluşumunu inceledikleri çalışmalarında, suşların penisilin, aztreonam, rifampisin, kanamisin, klindamisin ve gentamisine karşı yüksek bir ilaç direnci oranı gösterdiğini ve izolatların %81,64'ünün biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir. Chaudhary ve ark (2019), yaptıkları çalışmalarında 51 idrar numunesi incelenmiş ve inceleme sonucu numunelerin %45'inde *E. coli* izolatı tespit edilmiştir. Bu izolatların %70'i pozitif biyofilm oluşumu göstermiş olup, biyofilm oluşturan izolatlar eritromisin, amoksisilin, sefotaksim, levofloksasin ve nitrofurantoine karşı sırasıyla %100, %87,5, %75, %63 ve %12,5 direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Biyofilm oluşturan izolatların yaklaşık %87,5'inin çoklu ilaç direnci gösterdiği bulunmuştur. Ghazvini ve ark (2019), 200 UPEC suşunun virulans faktörlerini ve antibiyotik direncini araştırdıkları çalışmalarında, *fimH, papC* ve *hly*'nin sıklığı sırasıyla %64, %38 ve %12 olarak bulunmuştur. GSBL-pozitif ve GSBL negatif suşlarda en sık tanımlanan virülans geni sırasıyla *fimH* 46 (%23) ve 86 (%43) olduğu tespit edilmiştir. Mevcut çalışmamızda ise toplam 135 UPEC içerisinde sadece suşların %7,4 biyofilm pozitif özellik göstermiştir. Diğer araştırmacıların sonuçlarıyla kıyaslandığında özellikle biyofilm pozitiflik oranımız araştırmacıların sonuçlarına göre oldukça az olarak düşünülmüştür. Bunun olası bir nedeni; çalışmamızda sadece fenotipte biyofilm pozitif olan suşların *fimH* geni yönünden taranmış olması olabilir.

Pek çok araştırıcı elde ettikleri suşların tamamına *fimH* geni taraması yapmaktadır. Çalışmamızda ise daha önce belirtildiği gibi sadece fenotipte biyofilm üreten suşların genotipik doğrulaması yapılmıştır.

E. coli biyofilminin, çoğunlukla bilinen pek çok ilaca dirençli olduğu ve bunu bazı pompalar yardımı ile yaptığı belirlenmiştir. Hücre dışı matrisin gelişimi ve yaygın antibiyotiklere karşı gözlenen artan direnç, *E. coli* biyofilmlerinin neden olduğu enfeksiyonları kontrol etmek için bir zorluk oluşturur. Son zamanlarda, *E. coli* biyofilmiyle ilişkili enfeksiyonları tedavi etmek için yeni yaklaşımlar ve terapötik yöntemler araştırmak ve geliştirmek konusunda ilerlemeler kaydedilmiştir. *E. coli* biyofilminin moleküler ve yapısal anlayışı, enfeksiyonları azaltmak için spesifik ajanların hedeflenmesindeki ilerlemelere yol açmıştır. *E. coli* tip I pili, *E. coli* biyofilm oluşumunun yapışması ve başlaması için çok önemlidir. Curli alt ünite proteini CsgA ve tip I pili'ye karşı tasarlanmış Curlisit ve pilisitler, bakteriyel biyofilmin inhibe edilmesine neden oldukları olduğu gösterilmiştir. Fajların kombinasyonunun, farklı etki mekanizmalarla bakteri lizisini tamamladığı gösterilmiştir ve ümit verici sonuçlar vermiştir. Bakteriyel biyofilm ile mücadelede fitokimyasallar ve Aminoglikozit peptitler (AMP) çeşitli mekanizmaları aracılığıyla bu sorunu çözebilirler. Bu iyileştirici ajanların karşılaştığı en büyük sorunlardan biri stabilite ve düşük biyoyararlanımdır. Doğal bileşik etkinliği, nanoparçacıklara dahil edilerek veya belirli bir yüzeye kaplanarak geliştirilebilir. Gümüş nanoparçacıklar özellikle tıbbi cihazların ve yara sargılarının kaplanmasında büyük umut vaat etmiş ve *E. coli* biyofilmine karşı hem in vitro hem de in vivo fare modelinde etkili oldukları bulunmuştur. Bir kateter üzerine püskürtülen bir antimikrobiyal nanosprey JUC'nin, *E. coli* biyofilm oluşumunun kısıtlanmasında etkili olduğu bulunmuştur. Bu yeni yöntemler büyük umut vaat etmektedir, ancak in vivo etkililik, toksisite ve büyük ölçekli üretimle ilgili konuların, bu potansiyel terapötiklerin klinik aşamaya ulaşmadan önce ele alınması gerekmektedir (Sharma ve ark 2016).

Biyofilm oluşumuna katkıda bulunan faktörlerin değerlendirilmesi, bu enfeksiyonların tedavisinde yeni terapötik çözümlerin tasarlanmasında yardımcı olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya çapında artan antibiyotik direnci ve direncin odak noktasında bulunan patojen bakterilerin bu direnci başka mikroorganizmalara aktarmaları, hastalıklarla olan mücadelede insanoğlunu zor bir duruma düşürmektedir. Bu suşlara karşı geliştirilecek stratejiler ancak bu bakterilerin çeşitli virülans faktörlerinin ve antibiyotik direnç seviyelerinin tespiti ile mümkün olmaktadır. Yani karşıdaki düşmanın kimliğini bilmeden onunla mücadele etmek; zaman, para, emek ve can kayıplarına neden olabilmektedir. Çeşitli hastalıklara neden olan bakterilerin karakterizasyonlarının yapılması bu noktada önem arz eder.

Bunlardan birisi olan ve idrar yolu enfeksiyonuna neden olan üropatojenik *E. coli* (UPEC) suşları, pek çok *in vitro* ve *in vivo* çalışmaya konu olmaktadır. Bu çalışmada idrar yolları enfeksiyonlarından izole ve identifiye edilen 135 *E. coli* suşu; yirmi farklı antibiyotiğe duyarlılıkları; genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üretimleri ve biyofilm oluşturma özellikleri yönünden incelenmişlerdir. Suşların GSBL enzimlerinden sorumlu bazı genleri ile biyofilm üreten suşlarda *fimH* geni varlıkları gösterilmiştir. Toplam 88 suşun en az bir veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olduğu ve suşlar arasındaki direnç profillerin oldukça farklı olduğu (69 rezistotip) belirlenmiştir. GSBL üretim oranı %11,8 olarak belirlenmiş ve bu yüzde çoğu araştırıcının sonucuna göre düşük olarak değerlendirilmiştir. GSBL genleri yönünden blaTEM geninin GSBL pozitif suşlarda yaygın olduğu ortaya konmuştur. Biyofilm üretimi yönünden fenotipik olarak pozitif bulunan suşların tamamında *fimH* geni pozitif olarak belirlenmiştir.

Antibiyotiklerin rastgele ve gereksiz kullanımı sonucu direncin arttığı bilinmektedir. Bu direnç faktörlerine bir de suşların virülans faktörleri eklendiğinde durumu kontrol altına almak ve mücadele etmek mümkün olmamaktadır. Antibiyotik direnç seviyelerinin takip edilmesi, sürveyans çalışmalarının devamlı olarak yapılması ile ortaya koyulmaktadır. Bu tarz çalışmalar belirli periyotlarla yapılmalı ve takip edilmelidir. Özellikle biyofilm üretimi yapan suşlarla yapılan mücadelelerde, yetersiz kalabilen antibiyotik tedavilerini destekleyici yeni stratejiler geliştirilmelidir. Karşınızdaki düşmanın niteliğini bilmeden onunla savaşamazsınız. Biyofilm oluşumuna katkıda bulunan faktörlerin ve antibiyotik direnç faktörlerinin değerlendirilmesi, bu enfeksiyonların tedavisinde yeni terapötik çözümlerin

tasarlanmasında yardımcı olabilir. Mevcut çalışmamızın UPEC suşlarıyla yapılacak ileriki çalışmalara ışık tutacağı kanaatini taşımaktayız.

6. KAYNAKLAR

Aguiniga LM, Yaggie RE, Schaeffer AJ, Klumpp DJ, 2016. Lipopolysaccharide Domains Modulate Urovirulence. Infection and Immunity, 84, 11, 3131-40.

Aladag MO, Uysal A, Dundar N, Durak Y, Gunes E, 2013. Characterization of Klebsiella pneumoniae strains isolated from urinary tract infections: detection of ESBL characteristics, antibiotic susceptibility and RAPD genotyping. Polish Journal of Microbiology, 62, 4, 401-9.

Ali I, Kumar N, Ahmed S, Dasti JI, 2014. Antibiotic resistance in uropathogenic e. Coli strains isolated from non-hospitalized patients in pakistan. J Clin Diagn Res, 8, 9, DC01-4.

Alkhudhairy MK, Alshammari MMM, 2019. Extended spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli isolated from pregnant women with asymptomatic UTI in Iraq. EurAsian Journal of BioSciences, 13, 2, 1881-9.

Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C, 2013. Escherichia coli in Europe: an overview. Int J Environ Res Public Health, 10, 12, 6235-54.

Azap O, Togan T, Yesilkaya A, Arslan H, Haberal M, 2013. Antimicrobial Susceptibilities of Uropathogen Escherichia coli in Renal Transplant Recipients: Dramatic Increase in Ciprofloxacin Resistance. Transpl P, 45, 3, 956-7.

Azap OK, Arslan H, Serefhanoglu K, Colakoglu S, Erdogan H, Timurkaynak F, Senger SS, 2010. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase positivity in uropathogenic Escherichia coli isolated from community-acquired urinary tract infections. Clin Microbiol Infec, 16, 2, 147-51.

Bali EB, Acik L, Sultan N, 2010. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum beta-lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacter baumannii and Klebsiella isolates in a Turkish hospital. Afr J Microbiol Res, 4, 8, 650-4.

Barnhart MM, Chapman MR, 2006. Curli biogenesis and function. Annual Review of Microbiology, 60, 131-47.

Bayram Y, Eren H, Berktaş M, 2011. İdrar Örneklerinden İzole Edilen Bakteriyel Patojenlerin Dağılımı Ve Gsbl Pozitif Ve Negatif Escherıchıa Colı Suşlarının Fosfomisin Ve Diğer Antimikrobiyallere Duyarlılık Paterni. Ankem Derg, 25, 4, 232-6.

Beloin C, Roux A, Ghigo J-M, 2008. Escherichia coli biofilms. In: Bacterial Biofilms. Eds: Springer, p. 249-89.

Ben YJ, Fu CX, Hu M, Liu L, Wong MH, Zheng CM, 2019. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. Environ Res, 169, 483-93.

Berendonk TU, Manaia CM, Merlin C, Fatta-Kassinos D, Cytryn E, Walsh F, Burgmann H, Sorum H, Norstrom M, Pons MN, Kreuzinger N, Huovinen P, Stefani S, Schwartz T, Kisand V, Baquero F, Martinez JL, 2015. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. Nat Rev Microbiol, 13, 5, 310-7.

Bergsten G, Wullt B, Svanborg C, 2005. Escherichia coli, fimbriae, bacterial persistence and host response induction in the human urinary tract. International Journal of Medical Microbiology, 295, 6-7, 487-502.

Berkiten R, 2005. Escherichia, Tıbbi Mikrobiyoloji-2. Ed: Bozkaya, E., Nobel Tıp Kitabevi, 65-69., p.

Bernier C, Gounon P, Le Bouguenec C, 2002. Identification of an aggregative adhesion fimbria (AAF) type III-encoding operon in enteroaggregative Escherichia coli as a sensitive probe for detecting the AAF-Encoding operon family. Infect Immun, 70, 8, 4302-11.

Bijapur GAM, Maulingkar SV, Greeshma B, Usman SM, 2015. Multidrug Resistant Escherichia coli in Nosocomial Urinary Tract Infections at a Tertiary Care Hospital in Kerala, India. Open Infectious Diseases Journal, 9, 30-4.

Bilgehan H, 2000. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 10. baskı. İzmir: Barış Yayınları, 293-5.

Blaustein RA, Shelton DR, Van Kessel JA, Karns JS, Stocker MD, Pachepsky YA, 2016. Irrigation waters and pipe-based biofilms as sources for antibiotic-resistant bacteria. Environ Monit Assess, 188, 1, 56.

Boll EJ, Struve C, Boisen N, Olesen B, Stahlhut SG, Krogfelt KA, 2013. Role of enteroaggregative Escherichia coli virulence factors in uropathogenesis. Infection and immunity, 81, 4, 1164-71.

Bollestad M, Grude N, Solhaug S, Raffelsberger N, Handal N, Nilsen H-JS, Romstad MR, Emmert A, Tveten Y, Soraas A, Jenum PA, Jenum S, Moller-Stray J, Weme ET, Lindbaek M, Simonsen GS, Norwegian EUTISG, 2018. Clinical and bacteriological efficacy of pivmecillinam treatment for uncomplicated urinary tract infections caused by ESBL-producing Escherichia coli: a prospective, multicentre, observational cohort study. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 73, 9, 2503-9.

Bordford P, 2001. Extended-spectrum b-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clinical Microbiology Reviews, 14, 933-51.

Bradford PA, 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clinical Microbiology Reviews, 14, 4, 933-51.

Brolund A, 2014. Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. Infect Ecol Epidemiol, 4.

Busch A, Waksman G, 2012. Chaperone-usher pathways: diversity and pilus assembly mechanism. Philos T R Soc B, 367, 1592, 1112-22.

Bush K, Jacoby GA, 2010. Updated Functional Classification of beta-Lactamases. Antimicrob Agents Ch, 54, 3, 969-76.

Cai WT, Wannemuehler Y, Dell'Anna G, Nicholson B, Barbieri NL, Kariyawasam S, Feng YP, Logue CM, Nolan LK, Li GW, 2013. A Novel Two-Component Signaling System Facilitates Uropathogenic Escherichia coli's Ability to Exploit Abundant Host Metabolites. Plos Pathog, 9, 6.

Cantas L, Suer K, Guler E, Imir T, 2015. High Emergence of ESBL-Producing E. coli Cystitis: Time to Get Smarter in Cyprus. Front Microbiol, 6, 1446.

Canton R, Coque TM, 2006. The CTX-M beta-lactamase pandemic. Curr Opin Microbiol, 9, 5, 466-75.

Castanheira M, Farrell SE, Deshpande LM, Mendes RE, Jones RN, 2013. Prevalence of β-lactamase-encoding genes among Enterobacteriaceae bacteremia isolates collected in 26 US hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2010). Antimicrobial agents and chemotherapy, 57, 7, 3012-20.

Chapman MR, Robinson LS, Pinkner JS, Roth R, Heuser J, Hammar M, Normark S, Hultgren SJ, 2002. Role of Escherichia coli curli operons in directing amyloid fiber formation. Science, 295, 5556, 851-5.

Chaudhary S, Khatiwada B, Chaudhary N, 2019. Antibiotic susceptibility pattern of biofilm forming uropathogenic Escherichia coli isolated from UTI infected patients of Koshi Zonal Hospital in Biratnagar, Nepal. Bibechana, 16, 47-54.

Chervet D, Lortholary O, Zahar J-R, Dufougeray A, Pilmis B, Partouche H, 2018. Antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infections in Paris in 2015. Med Maladies Infect, 48, 3, 188-92.

CLSI, 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement, Pennsylvania, USA, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), p.

Coque TM, Baquero F, Canton R, 2008. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. Euro Surveill, 13, 47.

D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM, 2013. CTX-M-type beta-lactamases: a successful story of antibiotic resistance. Int J Med Microbiol, 303, 6-7, 305-17.

Dağlar D, Öngüt G, 2012. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL) ve Tanı Yöntemleri. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 1, 1-9.

Danese PN, Pratt LA, Kolter R, 2000. Exopolysaccharide production is required for development of Escherichia coli K-12 biofilm architecture. J Bacteriol, 182, 12, 3593-6.
Daniels R, Vanderleyden J, Michiels J, 2004. Quorum sensing and swarming migration in bacteria. FEMS Microbiol Rev, 28, 3, 261-89.
Danino D, Melamed R, Sterer B, Porat N, Hazan G, Gushanski A, Shany E, Greenberg D, Borer A, 2018. Mother-to-child transmission of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. Journal of Hospital Infection, 100, 1, 40-6.
Das S, Dash HR, 2014. Microbial biotechnology-a laboratory manual for bacterial systems, Springer, p.
Demain AL, Sanchez S, 2009. Microbial drug discovery: 80 years of progress. J Antibiot, 62, 1, 5-16.
Deveci Ö, Yula E, Tekin A, 2010. İdrar kültürlerinden izole edilen Escherichia coli suşlarında beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik direnci. Journal of Clinical and Experimental Investigations, 1, 3, 182-6.
Doi Y, Park YS, Rivera JI, Adams-Haduch JM, Hingwe A, Sordillo EM, Lewis 2nd JS, Howard WJ, Johnson LE, Polsky B, 2013. Community-associated extended-spectrum β-lactamase–producing Escherichia coli infection in the United States. Clin Infect Dis, 56, 5, 641-8.
Donlan RM, Costerton JW, 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev, 15, 2, 167-93.
Dougnon V, Assogba P, Anago E, Déguénon E, Dapuliga C, Agbankpè J, Zin S, Akotègnon R, Moussa LB, Bankolé H, 2020. Enterobacteria responsible for urinary infections: a review about pathogenicity, virulence factors and epidemiology. Journal of Applied Biology & Biotechnology Vol, 8, 01, 117-24.
Dougnon V, Assogba P, Anago E, Déguénon E, Dapuliga C, Agbankpè J, Zin S, Akotègnon R, Moussa LB, Bankolé H, 2020. Enterobacteria responsible for urinary infections: a review about pathogenicity, virulence factors and epidemiology. Journal of Applied Biology & Biotechnology 8, 01, 117-24.
ECDC, (2019). European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of Antimicrobial Resistance in Europe 2018. Stockholm**:** 1-110.
Eguchi Y, Ishii E, Hata K, Utsumi R, 2011. Regulation of Acid Resistance by Connectors of Two-Component Signal Transduction Systems in Escherichia coli. J Bacteriol, 193, 5, 1222-8.
Ejrnaes K, Stegger M, Reisner A, Ferry S, Monsen T, Holm SE, Lundgren B, Frimodt-Moller N, 2011. Characteristics of Escherichia coli causing persistence or relapse of urinary tract infections: phylogenetic groups, virulence factors and biofilm formation. Virulence, 2, 6, 528-37.
Ellis TN, Kuehn MJ, 2010. Virulence and Immunomodulatory Roles of Bacterial Outer Membrane Vesicles. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 74, 1, 81-+.
Emody L, Kerenyi M, Nagy G, 2003. Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli. Int J Antimicrob Agents, 22 Suppl 2, 29-33.
Endimiani A, Luzzaro F, Pini B, Amicosante G, Rossolini GM, Toniolo AQ, 2006. Pseudomonas aeruginosa bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to expression of the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase. Bmc Infect Dis, 6.
Eto DS, Jones TA, Sundsbak JL, Mulvey MA, 2007. Integrin-mediated host cell invasion by type 1-piliated uropathogenic Escherichia coli. Plos Pathog, 3, 7, 949-61.
EUCAST, (2019). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019., http://www.eucast.org.
Feraco D, Blaha M, Khan S, Green JM, Plotkin BJ, 2016. Host environmental signals and effects on biofilm formation. Microb Pathog, 99, 253-63.
Fiore DC, Fox CL, 2014. Urology and nephrology update: recurrent urinary tract infection. FP Essent, 416, 30-7.

Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ, 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat Rev Microbiol, 13, 5, 269-84.

Foxman B, 2014. Urinary Tract Infection Syndromes Occurrence, Recurrence, Bacteriology, Risk Factors, and Disease Burden. Infect Dis Clin N Am, 28, 1, 1-+.

Foxman B, Brown P, 2003. Epidemiology of urinary tract infections - Transmission and risk factors, incidence, and costs. Infect Dis Clin N Am, 17, 2, 227-+.

Gaddar N, Anastasiadis E, Halimeh R, Ghaddar A, Matar GM, Abou Fayad A, Sherri N, Dhar R, AlFouzan W, Yusef H, 2020. Phenotypic and Genotypic Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamases Produced by Escherichia coli Colonizing Pregnant Women. Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology, 2020, 1-7.

Ghadiri H, Vaez H, Razavi-Azarkhiavi K, Rezaee R, Haji-Noormohammadi M, Rahimi AA, Vaez V, Kalantar E, 2014. Prevalence and Antibiotic Susceptibility Patterns of Extended-Spectrum ss-Lactamase and Metallo-ss-Lactamase-Producing Uropathogenic Escherichia coli Isolates. Lab Med, 45, 4, 291-6.

Ghazvini H, Taheri K, Edalati E, Sedighi M, Mirkalantari S, 2019. Virulence factors and antimicrobial resistance in uropathogenic Escherichiacoli strains isolated from cystitis and pyelonephritis. Turk J Med Sci, 49, 1, 361-7.

Giron JA, Torres AG, Freer E, Kaper JB, 2002. The flagella of enteropathogenic Escherichia coli mediate adherence to epithelial cells. Molecular Microbiology, 44, 2, 361-79.

Gorgec S, Kuzucu C, Otlu B, Yetkin F, Ersoy Y, 2015. Investigation of Beta-Lactamase Genes and Clonal Relationship Among the Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing Nosocomial Escherichia coli Isolates. Mikrobiyol Bul, 49, 1, 15-25.

Goyal P, Krasteva PV, Van Genven N, Gubellini F, Van den Broeck I, Troupiotis-Tsailaki A, Jonckheere W, Pehau-Arnaudet G, Pinkner JS, Chapman MR, Hultgren SJ, Howorka S, Fronzes R, Remaut H, 2014. Structural and mechanistic insights into the bacterial amyloid secretion channel CsgG. Nature, 516, 7530, 250-+.

Gündem NS, Çıkman A, Gülhan B, 2013. İdrar kültürlerinden izole edilen Escherichia coli ve Klebsiella spp. suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi ve antibiyotik direnci. Journal of Clinical and Experimental Investigations, 4, 1, 56-62.

Hahn E, Wild P, Hermanns U, Sebbel P, Glockshuber R, Haner M, Taschner N, Burkhard P, Aebi U, Muller SA, 2002. Exploring the 3D molecular architecture of Escherichia coli type 1 pili. J Mol Biol, 323, 5, 845-57.

Hassuna NA, Khairalla AS, Farahat EM, Hammad AM, Abdel-Fattah M, 2020. Molecular characterization of Extended-spectrum beta lactamase- producing E. coli recovered from community-acquired urinary tract infections in Upper Egypt. Sci Rep, 10, 1, 2772.

Hirsch EF, 2008. "The Treatment of Infected Wounds," Alexis Carrel's contribution to the care of wounded soldiers during World War I. J Trauma, 64, 3, S209-S10.

Holvoet K, Sampers I, Callens B, Dewulf J, Uyttendaele M, 2013. Moderate prevalence of antimicrobial resistance in Escherichia coli isolates from lettuce, irrigation water, and soil. Appl Environ Microbiol, 79, 21, 6677-83.

Huddleston JR, 2014. Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. Infect Drug Resist, 7, 167-76.

Iakovides IC, Michael-Kordatou I, Moreira NFF, Ribeiro AR, Fernandes T, Pereira MFR, Nunes OC, Manaia CM, Silva AMT, Fatta-Kassinos D, 2019. Continuous ozonation of urban wastewater: Removal of antibiotics, antibiotic-resistant Escherichia coli and antibiotic resistance genes and phytotoxicity. Water Res, 159, 333-47.

İnci M, Yula E, Köksaldı VM, Davarcı M, Duran N, Kılınç Ç, İnci M, 2013. Nitrofurantoin ve fosfomisinin idrar yolu enfeksiyonu etkeni olan e. coli izolatalarına invitro etkiliği.

Ito A, May T, Taninchi A, Kawata K, Okabe S, 2009. Localized Expression Profiles of rpoS in Escherichia coli Biofilms. Biotechnol Bioeng, 103, 5, 975-83.

Jacoby GA, Munoz-Price LS, 2005. Mechanisms of disease: The new beta-lactamases. New Engl J Med, 352, 4, 380-91.

Johansen TEB, Botto H, Cek M, Grabe M, Tenke P, Wagenlehner FME, Naber KG, 2011. Critical review of current definitions of urinary tract infections and proposal of an EAU/ESIU classification system. Int J Antimicrob Ag, 38, 64-70.

Johnson JR, Jelacic S, Schoenin LM, Clabots C, Shaikh N, Mobley HLT, Tarr PI, 2005. The IrgA homologue adhesin Iha is an Escherichia coli virulence factor in murine urinary tract infection. Infection and Immunity, 73, 2, 965-71.

Johnson JR, Stell AL, 2000. Extended virulence genotypes of Escherichia coli strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. J Infect Dis, 181, 1, 261-72.

Khorshed AA, Arslan E, (2015). Determination of ESBL productıon as phenotypic and genotypic in extraintestinal pathogenıc E. coli. Turkish Journal of Biochemistry. Belek, ANTALYA, Turkish Journal of Biochemistry. **40:** 131.

Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P, 2008. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. Antimicrobial agents and chemotherapy, 52, 8, 2818-24.

Kizilca O, Siraneci R, Yilmaz A, Hatipoglu N, Ozturk E, Kiyak A, Ozkok D, 2012. Risk factors for community-acquired urinary tract infection caused by ESBL-producing bacteria in children. Pediatr Int, 54, 6, 858-62.

Klemm P, Vejborg RM, Hancock V, 2010. Prevention of bacterial adhesion. Appl Microbiol Biot, 88, 2, 451-9.

Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorffneutzling RM, Wiedemann B, 1985. Evolution of Plasmid-Coded Resistance to Broad-Spectrum Cephalosporins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 28, 2, 302-7.

Kline KA, Falker S, Dahlberg S, Normark S, Henriques-Normark B, 2009. Bacterial Adhesins in Host-Microbe Interactions. Cell Host Microbe, 5, 6, 580-92.

Komolafe OO, 2003. Antibiotic resistance in bacteria - an emerging public health problem. Malawi Med J, 15, 2, 63-7.

Kot B, Wicha J, Gruzewska A, Piechota M, Wolska K, Obrebska M, 2016. Virulence factors, biofilm-forming ability, and antimicrobial resistance of urinary Escherichia coli strains isolated from hospitalized patients. Turk J Med Sci, 46, 6, 1908-14.

Krumperman PH, 1983. Multiple Antibiotic-Resistance Indexing of Escherichia-Coli to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods. Appl Environ Microb, 46, 1, 165-70.

Kudinha T, Johnson JR, Andrew SD, Kong FR, Anderson P, Gilbert GL, 2013. Escherichia coli Sequence Type 131 as a Prominent Cause of Antibiotic Resistance among Urinary Escherichia coli Isolates from Reproductive-Age Women. Journal of Clinical Microbiology, 51, 10, 3270-6.

Kulkarni R, Dhakal BK, Slechta ES, Kurtz Z, Mulvey MA, Thanassi DG, 2009. Roles of Putative Type II Secretion and Type IV Pilus Systems in the Virulence of Uropathogenic Escherichia coli. Plos One, 4, 3.

Lee DS, Lee SJ, Choe HS, 2018. Community-Acquired Urinary Tract Infection by Escherichia coli in the Era of Antibiotic Resistance. Biomed Res Int, 2018, 7656752.

Lee SY, 1996. High cell-density culture of Escherichia coli. Trends Biotechnol, 14, 3, 98-105.

Levy SB, 2002. The 2000 Garrod lecture. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. J Antimicrob Chemother, 49, 1, 25-30.

Li BY, Webster TJ, 2018. Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. J Orthop Res, 36, 1, 22-32.

Lu P-L, Liu Y-C, Toh H-S, Lee Y-L, Liu Y-M, Ho C-M, Huang C-C, Liu C-E, Ko W-C, Wang J-H, 2012. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009–2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). Int J Antimicrob Ag, 40, S37-S43.

Manning SD, 2010. Escherichia coli infections, New York, USA, Chelsea House Publishers, p. 1-99.
Martinez JL, 2009. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. P Roy Soc B-Biol Sci, 276, 1667, 2521-30.
Martinez JL, Coque TM, Baquero F, 2015. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. Nat Rev Microbiol, 13, 2, 116-23.
Maslikowska JA, Walker SA, Elligsen M, Mittmann N, Palmay L, Daneman N, Simor A, 2016. Impact of infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli or Klebsiella species on outcome and hospitalization costs. J Hosp Infect, 92, 1, 33-41.
Mbanga J, Mudzana R, 2014. Virulence factors and antibiotic resistance patterns of uropathogenic Escherichia coli.
Micali S, Isgro G, Bianchi G, Miceli N, Calapai G, Navarra M, 2014. Cranberry and Recurrent Cystitis: More than Marketing? Crit Rev Food Sci, 54, 8, 1063-75.
Mittal S, Sharma M, Chaudhary U, 2015. Biofilm and multidrug resistance in uropathogenic Escherichia coli. Pathog Glob Health, 109, 1, 26-9.
Moawad AA, Hotzel H, Neubauer H, Ehricht R, Monecke S, Tomaso H, Hafez HM, Roesler U, El-Adawy H, 2018. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae from healthy broilers in Egypt: emergence of colistin-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli. Gut Pathogens, 10.
Moore E, Angelika A, Krüger A, Strömpl C, Mau M, 2004. Simplified protocols for the preparation of genomic DNA from bacterial cultures. 01, Netherlands., Kluwer Academic Publishers, p.
Mpelle FL, Ngoyi ENO, Kayath CA, Nguimbi E, Moyen R, Kobawila SC, 2019. First report of the types TEM, CTX-M, SHV and OXA-48 of beta-lactamases in Escherichia coli, from Brazzaville, Congo. Afr J Microbiol Res, 13, 8, 158-67.
Naas T, Poirel L, Nordmann P, 2008. Minor extended-spectrum beta-lactamases. Clin Microbiol Infec, 14, 42-52.
Nagamatsu K, Hannan TJ, Guest RL, Kostakioti M, Hadjifrangiskou M, Binkley J, Dodson K, Raivio TL, Hultgren SJ, 2015. Dysregulation of Escherichia coli alpha-hemolysin expression alters the course of acute and persistent urinary tract infection. P Natl Acad Sci USA, 112, 8, E871-E80.
Nakamura Y, Yamamoto N, Kino Y, Yamamoto N, Kamei S, Mori H, Kurokawa K, Nakashima N, 2016. Establishment of a multi-species biofilm model and metatranscriptomic analysis of biofilm and planktonic cell communities. Appl Microbiol Biot, 100, 16, 7263-79.
Naves P, del Prado G, Huelves L, Gracia M, Ruiz V, Blanco J, Dahbi G, Blanco M, Ponte MD, Soriano F, 2008. Correlation between virulence factors and in vitro biofilm formation by Escherichia coli strains. Microb Pathogenesis, 45, 2, 86-91.
Nesta B, Spraggon G, Alteri C, Moriel DG, Rosini R, Veggi D, Smith S, Bertoldi I, Pastorello I, Ferlenghi I, Fontana MR, Frankel G, Mobley HLT, Rappuoli R, Pizza M, Serino L, Soriani M, 2012. FdeC, a Novel Broadly Conserved Escherichia coli Adhesin Eliciting Protection against Urinary Tract Infections. Mbio, 3, 2.
Niranjan V, Malini A, 2014. Antimicrobial resistance pattern in Escherichia coli causing urinary tract infection among inpatients. Indian J Med Res, 139, 945-8.
Nuutinen M, Uhari M, 2001. Recurrence and follow-up after urinary tract infection under the age of 1 year. Pediatr Nephrol, 16, 1, 69-72.
Nwafia IN, Ohanu ME, Ebede SO, Ozumba UC, 2019. Molecular detection and antibiotic resistance pattern of extended-spectrum beta-lactamase producing Escherichia coli in a Tertiary Hospital in Enugu, Nigeria. Ann Clin Microb Anti, 18, 1, 41.
O'Brien VP, Hannan TJ, Nielsen HV, Hultgren SJ, 2016. Drug and Vaccine Development for the Treatment and Prevention of Urinary Tract Infections. Microbiol Spectr, 4, 1.
OBrien TF, 1997. The global epidemic nature of antimicrobial resistance and the need to monitor and manage it locally. Clin Infect Dis, 24, Suppl 1, S2-S8.

Onanuga A, Mahindroo J, Singh S, Taneja N, 2019. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistant Escherichia coli from urinary tract infections in Port-Harcourt, Nigeria. Pan Afr Med J, 34, 144.

Öztelli Y, 2004. Bayburt ili merkez ilçede içme sularında Enterohemorajik Escherichia Coli (o157: h7)'nin araştırılması, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süleyman Demirel Üniversitesi.

Paniagua-Contreras GL, Monroy-Pérez E, Rodríguez-Moctezuma JR, Domínguez-Trejo P, Vaca-Paniagua F, Vaca S, 2017. Virulence factors, antibiotic resistance phenotypes and O-serogroups of Escherichia coli strains isolated from community-acquired urinary tract infection patients in Mexico. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 50, 4, 478-85.

Parsot C, 2005. Shigella spp. and enteroinvasive Escherichia coli pathogenicity factors. Fems Microbiol Lett, 252, 1, 11-8.

Paterson DL, Bonomo RA, 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev, 18, 4, 657-+.

Peirano G, Mulvey GL, Armstrong GD, Pitout JD, 2013. Virulence potential and adherence properties of Escherichia coli that produce CTX-M and NDM β-lactamases. Journal of medical microbiology, 62, 4, 525-30.

Percival SL, Suleman L, Vuotto C, Donelli G, 2015. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. Journal of medical microbiology, 64, 4, 323-34.

Perez F, Bonomo RA, 2012. Can We Really Use ss-Lactam/ss-Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum ss-Lactamase-Producing Bacteria? Clinical Infectious Diseases, 54, 2, 175-7.

Pishtiwan AH, Khadija KM, 2019. Prevalence of blaTEM, blaSHV, and blaCTX-M Genes among ESBL-Producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli Isolated from Thalassemia Patients in Erbil, Iraq. Mediterranean journal of hematology and infectious diseases, 11, 1.

Poovendran P, Vidhya N, Murugan S, 2012. Antibiotic Susceptibility Patterns of Different Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) Strains at a Tertiary Care Hospital. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 3, 5, 1213-6.

Pratt LA, Kolter R, 1998. Genetic analysis of Escherichia coli biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. Molecular Microbiology, 30, 2, 285-93.

Qiao M, Ying GG, Singer AC, Zhu YG, 2018. Review of antibiotic resistance in China and its environment. Environ Int, 110, 160-72.

Raeispour M, Ranjbar R, 2018. Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of Uropathogenic Escherichia coli strains. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 7, 1, 118.

Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL, 2005. Epidemiology of Escherichia coli O157 : H7 outbreaks, United States, 1982-2002. Emerg Infect Dis, 11, 4, 603-9.

Rehab MMAA, El-Baghdady KZ, Iman KFK, El-Shishtawy HM, 2019. Prevalence of Extended Spectrum Beta-Lactamase Genes among Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Clinical Isolates. Egyptian Journal of Microbiology, 54, Articles in Press, 91-101.

Reisner A, Maierl M, Jorger M, Krause R, Berger D, Haid A, Tesic D, Zechner EL, 2014. Type 1 Fimbriae Contribute to Catheter-Associated Urinary Tract Infections Caused by Escherichia coli. J Bacteriol, 196, 5, 931-9.

Rizzo L, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, Dagot C, Ploy MC, Michael I, Fatta-Kassinos D, 2013. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. Sci Total Environ, 447, 345-60.

Ruppé E, 2010. Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi: l'avènement des CTX-M. Antibiotiques, 12, 1, 3-16.

Russo TA, Johnson JR, 2003. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to Escherichia coli: focus on an increasingly important endemic problem. Microbes Infect, 5, 5, 449-56.

Samet M, Ghaemi E, Nejad MH, Jamali A, 2014. Prevalence of different virulence factors and biofilm production ability of urinary Escherichia coli isolates. Int J Biol Med Res, 5, 4, 4546-9.

Sana T, Rami K, Racha B, Fouad D, Marcel A, Hassan M, Sani H, Monzer H, 2011. Detection of genes TEM, OXA, SHV and CTX-M in 73 clinical isolates of Escherichia coli producers of extended spectrum Betalactamases and determination of their susceptibility to antibiotics. The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents, 1, 1.

Serra DO, Hengge R, 2014. Stress responses go three dimensional–the spatial order of physiological differentiation in bacterial macrocolony biofilms. Environ Microbiol, 16, 6, 1455-71.

Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SMD, Kamal MA, 2015. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. Saudi J Biol Sci, 22, 1, 90-101.

Sharma G, Sharma S, Sharma P, Chandola D, Dang S, Gupta S, Gabrani R, 2016. Escherichia coli biofilm: development and therapeutic strategies. Journal of Applied Microbiology, 121, 2, 309-19.

Silverman JA, Schreiber HL, Hooton TM, Hultgren SJ, 2013. From Physiology to Pharmacy: Developments in the Pathogenesis and Treatment of Recurrent Urinary Tract Infections. Curr Urol Rep, 14, 5, 448-56.

Simon F, Kraemer P, De Pina J, Demortiere E, Rapp C, 2007. Le risque nosocomial en Afrique intertropicale-Partie 2: les infections des patients. Médecine Tropicale, 67, 2, 197-20.

Simpson BW, May JM, Sherman DJ, Kahne D, Ruiz N, 2015. Lipopolysaccharide transport to the cell surface: biosynthesis and extraction from the inner membrane. Philos T R Soc B, 370, 1679.

Skaar EP, 2010. The Battle for Iron between Bacterial Pathogens and Their Vertebrate Hosts. Plos Pathog, 6, 8.

Smelov V, Naber K, Johansen TEB, 2016. Improved Classification of Urinary Tract Infection: Future Considerations. Eur Urol Suppl, 15, 4, 71-80.

Soto SM, Marco F, Guiral E, Vila J, 2011. Biofilm formation in uropathogenic Escherichia coli strains: Relationship with urovirulence factors and antimicrobial resistance. Clinical Management of Complicated Urinary Tract Infection, 159-70.

Soto SM, Smithson A, Martinez JA, Horcajada JP, Mensa J, Vila J, 2007. Biofilm formation in uropathogenic Escherichia coli strains: Relationship with prostatitis, urovirulence factors and antimicrobial resistance. J Urology, 177, 1, 365-8.

Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G, Italian ESG, 2002. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. Antimicrob Agents Chemother, 46, 1, 196-202.

Stock AM, Robinson VL, Goudreau PN, 2000. Two-component signal transduction. Annu Rev Biochem, 69, 183-215.

Sturbelle RT, de Avila LFD, Roos TB, Borchardt JL, da Conceicao RDD, Dellagostin OA, Leite FPL, 2015. The role of quorum sensing in Escherichia coli (ETEC) virulence factors. Veterinary Microbiology, 180, 3-4, 245-52.

Subhadra B, Kim DH, Kim J, Woo K, Sohn KM, Kim HJ, Han K, Oh MH, Choi CH, 2018. Complete genome sequence of uropathogenic Escherichia coli isolate UPEC 26-1. Genes Genom, 40, 6, 643-55.

Surgers L, Boyd A, Girard PM, Arlet G, Decre D, 2019. Biofilm formation by ESBL-producing strains of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Int J Med Microbiol, 309, 1, 13-8.

Taheri M, Saleh M, Nemati AH, Ariana M, Shojaei E, Mardani M, Katouli M, Pooya M, 2016. Antibiotic Resistance Pattern and Phylogenetic Groups of the Uropathogenic Escherichia coli Isolates Recovered from the Urinary Catheters of the Hospitalized Patients. Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases, 4, 3, 76-82.

Tajbakhsh E, Ahmadi P, Abedpour-Dehkordi E, Arbab-Soleimani N, Khamesipour F, 2016. Biofilm formation, antimicrobial susceptibility, serogroups and virulence genes of uropathogenic E. coli isolated from clinical samples in Iran. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 5, 1, 11.

Terlizzi ME, Gribaudo G, Maffei ME, 2017. UroPathogenic Escherichia coli (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. Front Microbiol, 8.

Tissera S, Lee SM, 2013. Isolation of Extended Spectrum beta-lactamase (ESBL) Producing Bacteria from Urban Surface Waters in Malaysia. Malays J Med Sci, 20, 3, 14-22.

Tolg C, Bagli DJ, 2012. Uropathogenic Escherichia coli infection: potential importance of epigenetics. Epigenomics-Uk, 4, 2, 229-35.

Tomenius H, Pernestig AK, Jonas K, Georgellis D, Mollby R, Normark S, Melefors O, 2006. The Escherichia coli BarA-UvrY two-component system is a virulence determinant in the urinary tract. Bmc Microbiol, 6.

Trushenski JT, Jakaitis M, McCormick JL, 2020. Twenty Years of Disk Diffusion Testing Indicate No Meaningful Loss of Antibiotic Susceptibility for Multiple Pathogens Isolated from Hatcheries Operated by the Idaho Department of Fish and Game. North American Journal of Aquaculture, 82, 1, 24-32.

Ugwu M, Shariff M, Nnajide C, Beri K, Okezie U, Iroha I, Esimone C, 2020. Phenotypic and Molecular Characterization of β-Lactamases among Enterobacterial Uropathogens in Southeastern Nigeria. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 2020, 1-9.

Ustaçelebi, 1999. Temel ve klinik mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, İstanbul, 319-357., p.

Uysal A, Durak Y, 2012. Pulsed-field gel electrophoresis typing, antibiotic resistance, and plasmid profiles of Escherichia coli strains isolated from foods. Can J Microbiol, 58, 11, 1278-87.

Uysal A, Gunes E, Arslan E, Durak Y, 2018. Characterization of Uropathogenic Escherichia Coli Strains: Antibiotic Resistance Patterns, Detection of Esbl Genes and Interactions by Lytic Phages. Fresen Environ Bull, 27, 1, 402-14.

Van den Bogaard AE, London N, Driessen C, Stobberingh EE, 2001. Antibiotic resistance of faecal Escherichia coli in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. J Antimicrob Chemother, 47, 6, 763-71.

Van Driel AA, Notermans DW, Meima A, Mulder M, Donker GA, Stobberingh EE, Verbon A, 2019. Antibiotic resistance of Escherichia coli isolated from uncomplicated UTI in general practice patients over a 10-year period. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 38, 11, 2151-8.

Vigil PD, Stapleton AE, Johnson JR, Hooton TM, Hodges AP, He YQ, Mobley HLT, 2011. Presence of Putative Repeat-in-Toxin Gene tosA in Escherichia coli Predicts Successful Colonization of the Urinary Tract. Mbio, 2, 3.

Vikesland PJ, Pruden A, Alvarez PJJ, Aga D, Burgmann H, Li XD, Manaia CM, Nambi I, Wigginton K, Zhang T, Zhu YG, 2017. Toward a Comprehensive Strategy to Mitigate Dissemination of Environmental Sources of Antibiotic Resistance. Environ Sci Technol, 51, 22, 13061-9.

Vital PG, Zara ES, Paraoan CEM, Dimasupil MAZ, Abello JJM, Santos ITG, Rivera WL, 2018. Antibiotic Resistance and Extended-Spectrum Beta-Lactamase Production of Escherichia coli Isolated from Irrigation Waters in Selected Urban Farms in Metro Manila, Philippines. Water-Sui, 10, 5.

Vogeleer P, Tremblay YDN, Mafu AA, Jacques M, Harel J, 2014. Life on the outside: role of biofilms in environmental persistence of Shiga-toxin producing Escherichia coli. Front Microbiol, 5.

Wang Y, Yi L, Wang Y, Wang Y, Cai Y, Zhao W, Ding C, 2016. Isolation, phylogenetic group, drug resistance, biofilm formation, and adherence genes of Escherichia coli from poultry in central China. Poultry science, 95, 12, 2895-901.

Werneburg GT, Henderson NS, Portnoy EB, Sarowar S, Hultgren SJ, Li HL, Thanassi DG, 2015. The pilus usher controls protein interactions via domain masking and is functional as an oligomer. Nat Struct Mol Biol, 22, 7, 540-+.

Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA, 2008. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli. Exp Mol Pathol, 85, 1, 11-9.

Wood TK, 2009. Insights on Escherichia coli biofilm formation and inhibition from whole-transcriptome profiling. Environ Microbiol, 11, 1, 1-15.

Wright KJ, Seed PC, Hultgren SJ, 2005. Uropathogenic Escherichia coli flagella aid in efficient urinary tract colonization. Infection and Immunity, 73, 11, 7657-68.

Yilmaz N, Agus N, Yurtsever SG, Pullukcu H, Gulay Z, Coskuner A, Kose S, Aydemir S, Gulenc N, Ozgenc O, 2009. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Escherichia coli in outpatient urinary isolates in Izmir, Turkey. Med Sci Monitor, 15, 11, Pi61-Pi5.

Yılmaz N, Ağuş N, Bayram A, Şamlıoğlu P, Şirin MC, Derici YK, Hancı SY, 2016. Antimicrobial susceptibilities of Escherichia coli isolates as agents of community-acquired urinary tract infection (2008–2014). Turkish journal of urology, 42, 1, 32.

Zacche MM, Giarenis I, 2016. Therapies in early development for the treatment of urinary tract inflammation. Expert Opin Inv Drug, 25, 5, 531-40.

Zamani H, Salehzadeh A, 2018. Biofilm formation in uropathogenic Escherichia coli: association with adhesion factor genes. Turkish Journal of Medical Sciences, 48, 1, 162-7.

Zhang G, Meredith TC, Kahne D, 2013. On the essentiality of lipopolysaccharide to Gram-negative bacteria. Curr Opin Microbiol, 16, 6, 779-85.

Zowawi HM, Harris PNA, Roberts MJ, Tambyah PA, Schembri MA, Pezzani MD, Williamson DA, Paterson DL, 2015. The emerging threat of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in urology. Nat Rev Urol, 12, 10, 570-84.

7. EKLER

EK-A: Etik Kurul Onayı

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Sayısı: 2019/03	Toplantı Tarihi : 03.04.2019

Karar Sayısı 2019/55 S.Ü. Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü öğretim üyesi Doç.Dr.Ahmet UYSAL'ın "İdrar Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Direnç Profilleri, Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üretimi ve Biyofilm Özelliklerinin Değerlendirilmesi" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 13.03.2019 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü.

Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Doç.Dr.Ahmet UYSAL'ın "İdrar Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Direnç Profilleri, Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üretimi ve Biyofilm Özelliklerinin Değerlendirilmesi" adlı araştırmasının, çalışmanın yapılacağı ilgili kurumlardan izin almak şartı ile kabulüne oy birliği ile karar verildi.
Yardımcı Araştırmacı: Mehmet Akif BOZKIR.

ASLI GİBİDİR
03/04/2019
S.Selcen ÇELİK
Sekreterya

EK-B: Bildiriler

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

ALADAĞ MUSTAFA ONUR, ÖZPARLAK HALUK and **BOZKIR MEHMET AKİF** (2018). A Comparative Study on Antibacterial Properties of Methanol and Water Extracts of Origanum onites L. from Turkey. 7TH GLOBAL SUMMİT ON MEDİCİNAL AND AROMATİC PLANTS (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

ALADAĞ MUSTAFA ONUR, ÖZPARLAK HALUK, **BOZKIR MEHMET AKİF,** and ALKAN SİNAN (2019). Antibacterial Properties of Water Extracts of Wild-Grown and Cultivated Ganoderma Lucidum (Reishi Mushroom) from Turkey: A Comparative Study. AAER 2nd INTERNATIONAL CONFERENCE ON MULTİDİSCİPLİNARY APPROACHES IN APPLİED SCIENCES, ENGINEERING TECNOLOGY, BIOINFORMATICS & TRANSPORT (AETBT) (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

8. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Mehmet Akif Bozkır
Uyruğu	**:**	T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	Meram / 13.09.1988
Telefon	**:**	0506 464 69 33
e-mail	**:**	makif@selcuk.edu.tr

EĞİTİM

Derece		**Adı**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	Konya Atatürk Sağlık Meslek Lisesi	**2007**
Ön Lisans	:	Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu	**2014**
Lisans	:	Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü	**2017**
Lisans	:	Atatürk Üniversitesi Acil Yardım ve Afet Yönetimi	**2019**
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Laboratuvar A.B.D	**Devam ediyor**

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**
2007	Başkent Üniversitesi Hastanesi	Sağlık Memuru
2010	Marmara Üniversitesi Hastanesi	Sağlık Memuru
2010	Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	Sağlık Memuru