T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

YABANİ KUŞ DIŞKILARINDAN İZOLE EDİLEN Escherichia coli İZOLATLARINDA BETA LAKTAM DİRENÇ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Barış HALAÇ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Seyyal AK

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Mikrobiyoloji Programı

Kasım, 2022

Anneme ve Babama ithaf ediyorum…

BÜTÇE DESTEKLERİ

VAHŞİ KUŞ DIŞKILARINDAN İZOLE EDİLEN Escherichia coli İZOLATLARINDA BETA LAKTAM DİRENÇ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 30388

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu tezin gerçekleşmesinde çok büyük emeği olan danışmanım Prof. Dr. Seyyal AK'a, yardımlarını esirgemeyen tez izleme komitesi hocalarım Prof. Dr. Arzu Funda BAĞCIGİL'e ve Prof. Dr. Serhat ÖZSOY'a teşekkür ederim.

Her soruma ve sorunuma koşulsuz yardım eden Prof. Dr. Serkan İKİZ'e, Doç. Dr. Kemal METİNER'e, Doç. Dr. Beren BAŞARAN KAHRAMAN'a ve Doç. Dr. Belgi DİREN SIĞIRCI'ya teşekkür ederim. Tezimin hem laboratuvar hem de yazım aşamalarında çok büyük desteği olan Araş. Gör. Dr. Baran ÇELİK ve yoldaşım, arkadaşım Araş. Gör. Ayşe Ilgın KEKEÇ'e ne kadar teşekkür etsem azdır. Ayrıca hep yanımızda olan ve desteğini esirgemeyen Teknisyenimiz Gülten KARAKUZ'a da teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında destek veren Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ'ye, Prof. Dr. Bülent EKİZ'e ve Dr. Kenan AK'a ve Nigar FERHATOĞLU'na teşekkür ederim.

Ayrıca bana manevi ve sosyal olarak destek veren Dr. Nisa SİPAHİ'ye, Veteriner Hekim Begüm MAŞLAK'a, Biyoloji Öğretmeni Nilüfer ERZAİM'e ve dostum Didem GÜNAY'a teşekkür ederim.

Kasım 2022 **Barış HALAÇ**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ..... Error! Bookmark not defined.
BEYAN ..... Error! Bookmark not defined.
BÜTÇE DESTEKLERİ ..... **iii**
TEŞEKKÜR ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **vii**
TABLO LİSTESİ ..... **viii**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **x**
ÖZET ..... **xii**
ABSTRACT ..... **xiv**
1. GİRİŞ **1**
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE **2**
2.1. Beta Laktam Antibiyotikler ve Beta Laktamazlar 2
2.1.1. Beta Laktam Antibiyotiklerin Sınıflandırılması 3
2.1.2. Direnç Mekanizmaları 6
2.2. Beta Laktamaz Çeşitleri 8
2.2.1. GSBL Tipi Beta Laktamazlar 8
2.2.2. AMPC Tipi Beta Laktamazlar 9
2.2.3. Karbapenemazlar 10
2.3. Antibiyotik Direncinin Yayılımı 11
2.3.1. Beşeri Tıpta Antibiyotik Direnci 11
2.3.2. Veteriner Tıpta Antibiyotik Direnci 12
2.3.3. Deniz Canlılarında Antibiyotik Direnci 14
2.3.4. Çevre ve Yaban Hayatta Antibiyotik Direnci 15
2.4. Kuşlarda Göç 16
2.5. Türkiye'deki Göç Yolları 17
3. YÖNTEM **18**
3.1. GEREÇLER 18

3.1.1. Örnekler 18
3.1.2. Örneklerin Alınması 18
3.1.3. Besiyerleri 36
3.1.4. Antibiyotik Diskleri 36
3.1.5. Moleküler Çalışmalar 37
3.1.6. Diğer Gereçler 39
3.2. YÖNTEM 40
3.2.1. *E.coli* İzolasyonu ve İdentifikasyonu 40
3.2.2. Fenotipik GSBL Varlığının Saptanması 40
3.2.3. Moleküler Çalışmalar (PCR) 42
3.2.4. Amplifiye Edilen Ürünlerin Görüntülenmesi 50
3.2.5. İstatistiksel Analiz 50
4. BULGULAR 52
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları 52
4.2. Fenotipik GSBL Tarama Testi Sonuçları 52
4.2.1. Fenotipik GSBL Doğrulama Testi Sonuçları 53
4.2.2. Fenotipik AmpC Tanımlama Testi Sonuçları 53
4.2.3. GSBL ve/veya AmpC Pozitif *E. coli* Dağılımı 55
4.2.4. Fenotipik Karbapenemaz Testi (Modifiye Hodge Testi) Sonuçları 55
4.3. PCR Sonuçları 61
4.3.1. Gruplara göre GSBL ve AmpC kodlayan gen dağılımları 64
4.3.2. Karbapenemaz Kodlayan Gen Sonuçları 67
4.4. Türlere Göre Bulgular 72
4.5. İstatisksel Analiz Bulguları 74
5. TARTIŞMA 77
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 87
KAYNAKLAR 88
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 104
ETİK KURUL İZİN YAZISI ..... Error! Bookmark not defined.
KURUM İZNİ YAZILARI ..... Error! Bookmark not defined.
ÖZGEÇMİŞ ..... Error! Bookmark not defined.

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Beta Laktamazların Sınıflandırılması 5
Şekil 2.2: Bakterilerde antimikrobiyal direnç mekanizması 7
Şekil 3.1: Balaban (*Botaurus stellaris*) 28
Şekil 3.2: Çulluk (*Scolopax rustica*) 28
Şekil 3.3: Kukumav (*Athene noctua*) 29
Şekil 3.4: Alaca Baykuş (*Strix aluco)* 30
Şekil 3.5: Kulaklı Orman Baykuşu (*Asio otus*) 31
Şekil 3.6: Yılan Kartalı (*Circaetus gallicus*) 32
Şekil 3.7: Atmaca (*Accipiter nisus*) 33
Şekil 3.8: Kır Kırlangıcı (*Hirundo rustica*) 34
Şekil 4.1: GSBL Tarama ve Doğrulama Testleri 54
Şekil 4.2: Modifiye Hodge Testi 56
Şekil 4.3: CTX-M Grubu PCR Sonuç Örneği 62
Şekil 4.4: CTX-M Grup 1 Sonuçları 63
Şekil 4.5: SHV Grubu PCR Sonuçları 64

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1: Marmara bölgesinde yerleşik "yabani deniz kuşları" (karabatak, martı, gri balıkçıl gibi denizlerde ve göllerde, insanlarla birlikte yaşayanlar)'na ait bilgiler (Grup 1) 20

Tablo 3.2: Marmara bölgesinde yerleşik "yabani karakuşları" (Kumru, güvercin, karga, serçe gibi şehirlerde yaşayanlar)'na ait bilgiler (Grup 2) 22

Tablo 3.3: Marmara bölgesinde periyodik olarak konaklayan "kış göçmenleri" (Şubat ayına kadar ülkemizde bulunan ve yerli olarak yaşayan kuşlar)'ne ait bilgiler (Grup 3). 24

Tablo 3.4: Marmara bölgesinde periyodik konaklayan "Yaz Göçmenleri" (İlkbaharda gelen kuşlar ve küçük ötücüler)'ne ait bilgiler (Grup 4) 26

Tablo 3.5: Toplanan örneklerin hayvan türü ve/veya cinsine göre sayıları 35

Tablo 3.6: Reverse ve Foward Primer çiftlerine ait gen dizilimleri, amplikon büyüklükleri ve kaynakları 38

Tablo 3.7: Disk difüzyon yöntemi ile GSBL tarama testi için kullanılan Antibiyotikler ve inhibisyon zon sınır değerleri (CLSI 2021)..... 41

Tablo 3.8: GSBL Genlerinin PCR Karışımları ve PCR Döngüleri 46

Tablo 3.9: AmpC Grubu Genlerin Amplifikasyonu 48

Tablo 3.10: Karbapenem direnç genlerinin karışım ve döngüleri 50

Tablo 4.1: Örnek alınan gruplara göre izole ve identifiye edilen *E. coli*'lerin dağılımı..... 52

Tablo 4.2: Grup 1'e ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları..... 57

Tablo 4.3: Grup 2'ye ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları..... 59

Tablo 4.4: Grup 3'e ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları..... 60

Tablo 4.5: Grup 4'e ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları..... 60

Tablo 4.6: Gruplara göre fenotipik GSBL ve/veya AmpC üreten izolatların dağılımı 61

Tablo 4.7: GSBL ve AmpC Grup Genlerinin Dağılımı 67

Tablo 4.8: GRUP 1'e (Marmara bölgesinde yerleşik yabani deniz kuşları) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları 68

Tablo 4.9: GRUP 2'ye (İnsanlarla yaşayan yabani kuşlar grubu) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları 70

Tablo 4.10: GRUP 3'e (Kışın yerleşik olarak bulunan yabani kuşlar grubu) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları 71

Tablo 4.11: GRUP 4'e (Yazın göçen yabani kuşlar ve küçük ötücüler) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları 71

Tablo 4.12: Hayvan Türleri ve Antimikrobiyal Direnç Profilleri..... 74

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
Bp	: Baseper
Dk	: Dakika
°	: Derece
gr	: Gram
L	: Litre
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
pmol	: Pikomol
rpm	: Revolutions Per Minute
sa	: Saat
C	: Santigrad

Kısaltmalar	Açıklama
AmpC	**:** C sınıfı Beta Laktamaz
AMR	: Antimikrobiyal direnç
ATCC	: American Type Culture Collection
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institue
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
E.coli	: *Escherichia coli*
EFSA	: European Food Safety Authority
GSBL	: Genişlemiş Spektrum Beta Laktamaz
HGT	: Yatay Gen Transferi
KPC	: *Klebsiella pnemoniae* Karbapenemaz
MBL	: Metallo Beta Laktamaz
MHA	: Mueller Hinton Agar

MHT : Modifiye Hodge Testi

MIC : Minimal İnhibitör Konsantrasyonu

MR : Methil Red

MRSA : Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

OIE : Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü

PBP : Penisilin Bağlayıcı Protein

PCR : Polimerase Chain Reaction

PAmpC : Plazmid Aracılı AmpC

TSIA : Triple Sugar Iron Agar

VP : Voges-Proskauer

VRE : Vankomisine dirençli Enterokok

ÖZET

DOKTORA TEZİ

YABANİ KUŞ DIŞKILARINDAN İZOLE EDİLEN *Escherichia coli* İZOLATLARINDA BETA LAKTAM DİRENÇ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Barış HALAÇ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Mikrobiyoloji Programı

Danışman : Prof. Dr. Seyyal AK

Halaç B. (2022). Yabani Kuş Dışkılarından İzole Edilen *E. coli*'lerde Beta Laktam Direnç Varlığının Araştırılması. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada, Marmara bölgesinde yaşayan yabani ya da göç sırasında bu bölgeye uğrayan ve belli bir dönemi bu bölgede geçiren yabani göçmen kuşların dışkılarında, beta laktam dirençli *Escherichia coli'*nin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi amaçlandı. Yabani kuşlardan noninvaziv yöntemlerle alınan 272 taze dışkı kullanıldı. Dışkı alınacak kuşlar dört grup ve her bir grup 68 adet örnek içerecek şekilde sınıflandırıldı. Grup 1; Marmara Bölgesinde yerleşik yabani su kuşlarını, Grup 2; yerleşik (şehirlerde yaşayan) yabani karakuşlarını (Kumru, güvercin, karga, serçe vb.), Grup 3; kışı ülkemizde geçiren göçmenleri, Grup 4; ilkbahar ve yazı ülkemizde geçiren Göçmenleri kapsadı.

Dışkı örneklerine Triptic Soy Broth'da ön zenginleştirme uygulandı. Kültürler sefotaksimli(1g/L) ve sefotaksimsiz MacConkey agar besiyerine pasajlandı. Sefotaksimsiz MacConkey agarda üreyen *E.coli* izolatlarının tamamına uygulanan Modifiye Hodge Testi sonucunda *E.coli* izolatlarının (n=212) hiçbirisinde karbapenem direnci saptanmadı. Sefotaksimli MacConkey agarda üreyen *E.coli* izolatlarının Genişlemiş spektrumlu Beta

Laktamaz (GSBL) ve AmpC beta laktamaz pozitifliği tarama ve doğrulama testleri ile fenotipik olarak tespit edildi. Gruplara dağılım bakılmaksızın sefotaksim katkılı MacConkey Agar'dan izole edilen 84 *E. coli* suşunun GSBLve/veya AmpC pozitif izolat sayısı 62 (62/272; %22,8)olarak bulundu. Dağılımda 55'inin GSBL, 12'sinin AmpC aktivitesine sahip olduğu belirlendi. Bu *E. coli* suşlarının 50'sinin yalnız GSBL, 7'sinin AmpC ve 5'inin GSBL ve AmpC aktivitelerinin her ikisine de sahip olduğu saptandı. Bu ayrımlar dikkate alınmadan hayvan sayısına göre saptanan *E. coli* izolatlarının fenotipik direnç aktiviteleri değerlendirildiğinde 272 kuşun 59(%21,7)'unda antimikrobiyal direnç olduğu belirlendi. Bu 59 kuşun 47'si sadece GSBL, 6'sı sadece AmpC ve 6'sı GSBL + AmpC fenotipik dirence sahipti. Bulgular gruplara göre değerlendirildiğinde grup 1'in ve hayvan türlerine göre değerlendirildiğinde, grup 1'de yer alan martıların yüksek oranlada GSBL ve/veya AmpC direncine sahip sahip *E. coli* suşlarını barındırdığı görüldü.

Sefotaksimli MacConkey agarda üremiş 84 *E.coli* izolatının fenotipik sonuçlarına bakılmaksızın GSBL ve AmpC kodlayan genleri belirlemek amacıyla yapılan PCR sonucunda 48'inin yalnız GSBL, 3'ünün yalnız AmpC, 5'inin GSBL ve AmpC aktivitesini kodlayan genler yönünden pozitif olduğu saptandı. Genlerin dağılımı GSBL için $bla_{CTX\text{-}M}$ (n=50), bla_{SHV} (n=2), bla_{OXA10} (n=10), AmpC yönünden bla_{MOX} (n=6), bla_{CIT} (n=2) olarak belirlendi. Hayvan türlerine göre değerlendirildiğinde grup 1 de yer alan martıların en yüksek oranda enzim genleri içeren *E. coli* suşlarını içerdiği belirlendi.

Tüm sonuçlar incelendiğinde, gerek fenotipik, gerekse genotipik bulgular ışığında GSBL ve/veya AmpC β-laktamaz üreten *E.coli* prevalansının grup 1 ve 2'de en yüksek oranda olduğu saptandı. Bu gruplardaki pozitiflik ve gruplar arasındaki önem istatistiki açıdan anlamlı bulundu ($P<0,001$). Bu çalışmanın yapıldığı İstanbul'da geniş yaşam dağılımlarına sahip olan ve grup 1'de yer alan martı türlerinin, özellikle çöplüklerden ve çeşitli ortamlarda direkt olarak insan, hayvan ve tarımsal atıklar ile beslendiği göz önüne alındığında, saptanan direnç profilinin insan ve/veya hayvan kaynaklı olduğunu düşündürdü.

Kasım 2022 , 125 sayfa.

Anahtar kelimeler: *E.coli*, Beta Laktam Direnci, Yabani Kuş

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

INVESTIGATION OF BETA LACTAM RESISTANCE IN *E. COLI* ISOLATED FROM WILD BIRD FECES.

Barış HALAÇ

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Microbiology

Microbiology Programme

Supervisor : Prof. Dr. Seyyal AK

Halac B. (2022). Investigation of Beta Lactam Resistance in *E. coli* Isolated from Wild Bird Feces. Istanbul University-Cerrahpaşa Graduate Education Institute, Department of Veterinary Microbiology. Doctoral Thesis. Istanbul. Halac B. (2022).

In this study, it was aimed to determine phenotypic and genotypic beta lactam resistant *Escherichia coli* in the faeces of wild migratory birds living in the Marmara region or visiting this region during migration and spending a certain period in this region. 272 fresh feces taken from wild birds by noninvasive methods. Birds to be defecated were classified into four groups and each group included 68 samples. Group 1; resident wild waterfowl, Group 2; resident (city-dwelling) wild birds (Dove, pigeon, crow, sparrow, etc.), Group 3; immigrants who spend the winter in our country, Group 4; covered the Immigrants who spent the spring and summer in our country.

Stool samples were pre-enriched in Triptic Soy Broth. Cultures were passaged on MacConkey agar with and without cefotaxime (1 g/L). Carbapenem resistance was not detected in any of the *E.coli* isolates (n=212) as a result of the Modified Hodge Test applied to all *E.coli*

isolates grown on MacConkey agar without cefotaxime. Extended-spectrum Beta-Lactamase (ESBL) and AmpC beta-lactamase positivity of *E.coli* isolates grown on MacConkey agar with cefotaxime were detected phenotypically by screening and confirmatory tests. Regardless of group distribution, the number of ESBL and/or AmpC positive isolates of 84 *E. coli* strains isolated from MacConkey Agar supplemented with cefotaxime was 62 (62/272; 22.8%). It was determined that 55 of them had ESBL activity and 12 of them had AmpC activity in the distribution. It was determined that 50 of these *E. coli* strains had only ESBL, 7 had AmpC and 5 had both ESBL and AmpC activities. When the phenotypic resistance activities of E. coli isolates, which were determined according to the number of animals without considering these distinctions, were evaluated, it was determined that 59 (21.7%) of 272 birds had antimicrobial resistance. Of these 59 birds, 47 had ESBL only, 6 AmpC only, and 6 ESBL + AmpC phenotypic resistance. When the findings were evaluated according to the groups, when group 1 was evaluated according to animal species, it was seen that the gulls in this group harbored *E. coli* strains with high ESBL and/or AmpC resistance.

Regardless of the phenotypic results of 84 *E.coli* isolates grown on MacConkey agar with cefotaxime, PCR was performed to determine the genes encoding ESBL and AmpC, and 48 of them were positive for ESBL only, 3 for AmpC only, and 5 for ESBL and for genes encoding AmpC activity. The distribution of genes was determined as bla_{CTX-M} (n=50), bla_{SHV} (n=2), bla_{OXA10} (n=10) for ESBL, bla_{MOX} (n=6), bla_{CIT} (n=2) for AmpC. When evaluated according to animal species, it was determined that the seagulls in group 1 contained the *E. coli* strains containing the highest enzyme genes.

When all the results were examined, it was determined that the prevalence of *E.coli* producing ESBL and/or AmpC β-lactamase was highest in groups 1 and 2 in the light of both phenotypic and genotypic findings. The positivity in these groups and the significance between the groups were found to be statistically significant ($P<0.001$). Considering that the gull species in group 1, which have a wide habitat distribution in Istanbul, where this study was conducted, are fed directly with human, animal and agricultural wastes, especially from garbage dumps and in various environments, the resistance profile determined is of human and/or animal origin. November 2022, 125. pages.

Keywords: *E.coli*, Beta Lactam Resistance, Wild Birds

1. GİRİŞ

Kuşlar, dünyanın her bölgesinde bulunan, bulunduğu bölgeye ve beslenmelerine göre evrimleşmiş canlılardır. Bazı türler insanlar tarafından evcilleştirilirken büyük bir kısmı yabani olarak varlıklarını sürdürmektedir. İnsanların yayılması ve yaşam alanlarını genişletmesi ile kuşların yaşam alanlarına girmişler ve bunun sonucunda bazı kuş türleri insanlarla bağlı şekilde yaşamaya başlamış ancak evcilleşmemişlerdir. Martılara, güvercinlere, kumrulara, kargalara dünyadaki tüm yerleşim yerlerinde rastlanmaktadır. Bu kuşlar içinde özellikle martılar insanlarla beraber yaşamakta, onlara ait atıklarla beslenmekte dolayısıyla insana ait patojenlerle kontamine olmaktadırlar. Bu kuşların yanında tamamen vahşi doğada yaşayan ve tüm yaşamını vahşi doğada ve oradan elde ettikleri ile yaşayan kuşlar da vardır. Şahin, kartal, atmaca gibi avcı kuşlar, ötleğen, baştankara gibi küçük ötücüler, leylek, flamingo, pelikan gibi göçmen kuşlar tamamen yabani olarak kabul edilmektedirler. Leylekler gibi bazı göçmenler konaklama amacıyla insanlara yakın yerlere yaklaşabilir, birçok çöplüğü göç sırasında konaklama alanı olarak kullanabilirler. Ülkemiz, Afrika, Avrasya, Avrupa göç yolları üzerinde konumlandığı için göçmen kuşların önemli bir durak ve üreme noktasıdır.

Escherichia coli (E. coli), neredeyse tüm canlıların intestinal florasında bulunan fırsatçı patojen bir bakteridir. *E. coli*, hem patojen olma kabiliyeti hem de antibiyotiklere karşı direncin kolayca taşıma kabiliyetinden dolayı hem beşeri hem de hayvan sağlığı için önemli bir bakteridir. Günümüzde oldukça ciddi bir problem olan antibiyotik direnci, *E. coli* suşlarında kolistin, betalaktam, AmpC ve karbapenem direnci olarak karşımıza çıkmaktadır. Betalaktam halkasına sahip olan penisilin türevi antibiyotikler günümüzde birçok hastalığın tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılmakta, başta *E. coli* olmak üzere birçok bakteride bu antibiyotiklere karşı direnç gözlenmektedir.

İnsanlarla birlikte yaşayan yabani kuş türlerine (martı, güvercin karga vb.), herhangi bir antibiyotik tedavisi uygulanmasa da kentsel ve tarımsal alanlarda bulunan kanalizasyon ve çöplüklerde, insan ve/veya hayvan atıkları ile beslendikleri için bu dirençli bakterileri alabilmekte, uzak mesafelere taşıyabilmektedirler.

Bu çalışmada Marmara bölgesinde yerleşik olarak yaşayan ve göç sırasında bu bölgeye uğrayan, belli bir süreyi bu bölgede geçiren yabani kuşlardan alınan dışkılarda GSBL, AmpC β-laktamaz ve karbapenemaz üreten *E. coli* varlığının ve prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. Beta Laktam Antibiyotikler ve Beta Laktamazlar

β-laktam antibiyotikler (penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler), insanlarda ve hayvanlarda düşük toksisiteleri ile birlikte farklı bakteriyel patojenler üzerinde etkili ve geniş etki biçimleri nedeniyle çok önemli ilaçlardır (Louie ve Bell, 2002). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), sefalosporinleri (3. ve daha yüksek nesillerin) beşeri tıp için kritik öneme sahip antimikrobiyaller olarak sınıflandırmıştır. β-laktam antibiyotikler, bakterinin hücre duvarı sentezini inhibe eden penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanarak etki göstermektedir (Louie & Bell, 2002). Bakterilerde en önemli direnç mekanizması, β-laktam antibiyotiklerini hidrolize eden β-laktamaz enziminin üretimidir (Drawz ve Bonomo, 2010). β-laktamazlar, kökeni milyonlarca, bazen de milyarlarca yıl öncesine kadar izlenebilen eski enzimlerdir. β-laktamaz grubu yaklaşık 2800 benzersiz proteinden oluşur ve mikroorganizmaları çevrede doğal olarak oluşan β-laktamlardan korumak için oluşmuştur. β-laktamazlar β-laktam antibiyotikleri hidrolize ettikleri mekanizmaya göre biyokimyasal olarak iki gruba ayrılmıştır; serin-β-laktamazlar ve metallo-β-laktamazlar. Temel β-laktamazlar için dizi analizleri ile dört farklı moleküler farklılaşma ortaya konularak A, B, C ve D moleküler sınıfları belirlenmiş ve bu şekilde gruplandırılmışlardır. Serin-β-laktamazlar A, C veya D olarak alt bölümlere ayrılırken metallo-β-laktamazlar B olarak sınıflandırılır. Dört moleküler sınıf, substrat ve inhibitör profilleri ile ilgili fonksiyonel kapasiteye dayalı olarak ayrıca 17 fonksiyonel gruba bölünmüştür (Bush ve ark. 1995). Klasik Genişlemiş Spektrumlu β-laktamazlar veya GSBL'ler, fonksiyonel grup 2b.e'de bulunur ve penisilini, geniş spektrumlu sefalosporinleri parçalama ve klavulanik asit tarafından inhibisyon ile tanımlanmıştır (Laxminarayan ve ark., 2013). Dolayısıyla, GSBL genleri, doğal olarak oluşan β-laktamaz genlerinden (örneğin; TEM-1, OXA-1 ve SHV-1) *E. coli* gibi potansiyel patojenik bakterilerde; TEM -10, OXA-12 ve SHV-28 gibi çok sayıda geniş spektrumlu β-laktamaz geninin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Diğer GSBL genleri patojenik olmayan bakterilerde ortaya çıkmış ve yatay olarak patojen bakterilere aktarılmıştır, en önemli örnek Kluyvera cinsine ait çevresel bakterilerden kaynaklandığına inanılan CTX-M GSBL'lerdir (Baym ve ark., 2016). CTX-M tipi GSBL'ler küresel bir pandemiye neden olmuştur.Bu özelliğe sahip bakteriler kliniklerde, toplumda ve

çevrede bulunan başlıca GSBL dirençli bakteri türünü temsil etmektedir (von Wintersdorff ve ark., 2016).

2.1.1. Beta Laktam Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Biyokimyasal olarak baktığımızda, Beta laktam antibiyotiklerin tamamında ortak olarak 3-karbon ve 1-azot halkası (beta laktam halkası) bulunmaktadır. Bu ortak noktadan çıkarak beta laktam antibiyotikler 5 sınıfta incelenmektedir (Pandey N. ve ark. 2021).

2.1.1.1. Penisilinler

Bu tip antibiyotikler, merkezlerinde 6-animopenisilanik asit halkası ve diğer halka bağlantılı zincirlerden oluşmuştur. Bu grubun içerisinde doğal penisilinler, beta laktamaz dirençli ajanlar, aminopenisilinler, karboksipenisilinler ve üreidopenisilinler bulunmaktadır. Doğal penisilinler, Penisilin G ve Penisilin V, belirli gram pozitif enfeksiyonlarda ve gram negatif enfeksiyonlarda etkili olduğu saptanmıştır. Beta laktamaz dirençli ajanlar, oksasilin, nafsilin ve dikloksasilin, gram pozitif organizmalara karşı etkilidirler. Aminopenisilinler, hem gram negatif hem de gram pozitif etkenlere karşı etkilidirler. Çoğu beta laktamaz inhibitörleri, sulbaktam ve klavulanik asit, ile beraber kullanılmaktadır. Üreidopenisilinler (piperasilin) çoğunlukla aminopenisilinlere dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda beta laktamaz inhibitörleri ile beraber kullanılmaktadır (Ibrahim M.E. ve Ark.2019).

2.1.1.2. Sefalosporinler

7-aminosefolosporanik asit merkezli, yan zincilerinde 3,6-dihidro-2 H-1,3- tizan halkası bulundururlar. Jenerasyonlarına göre 5 kuşak olarak ayrılmıştır. 1. Kuşak sefalosporinler (sefaleksin, sefazolin, sefalotin) gram pozitiflere karşı etkilidirler. 2. Kuşak sefalosporinler (Sefuroksim, sefoksistin, sefotetan, sefprozil, sefonosid) çoğunlukla gram negatiflere karşı etkilidirler. 3. Kuşak sefalosporinler (Sefotaksim, seftriakson, sefiksim, seftibuten) mikoplazma, klamidya ve pseudomonaslar hariç gram pozitif ve negatif bakterilere karşı etkilidirler. 4. Kuşak sefalosporinler (Seftazidim, sefepim) aynı zamanda anti pseudomonal olarak da adlandırılırlar. Pseudomonaslara karşı etkilidirler. 5. Kuşak sefalosporinler (seftarolin, seftolozon) MRSA, Penisiline dirençli bakteriler ve dirençli enterokokların tedavisinde kullanılmaktadır. 5. Kuşak sefalosporinler Anti MRSA sefalosporinler olarak da adlandırılmıştır (Probst-Kepper, M ve ark. 2016).

2.1.1.3. Karbapenemler

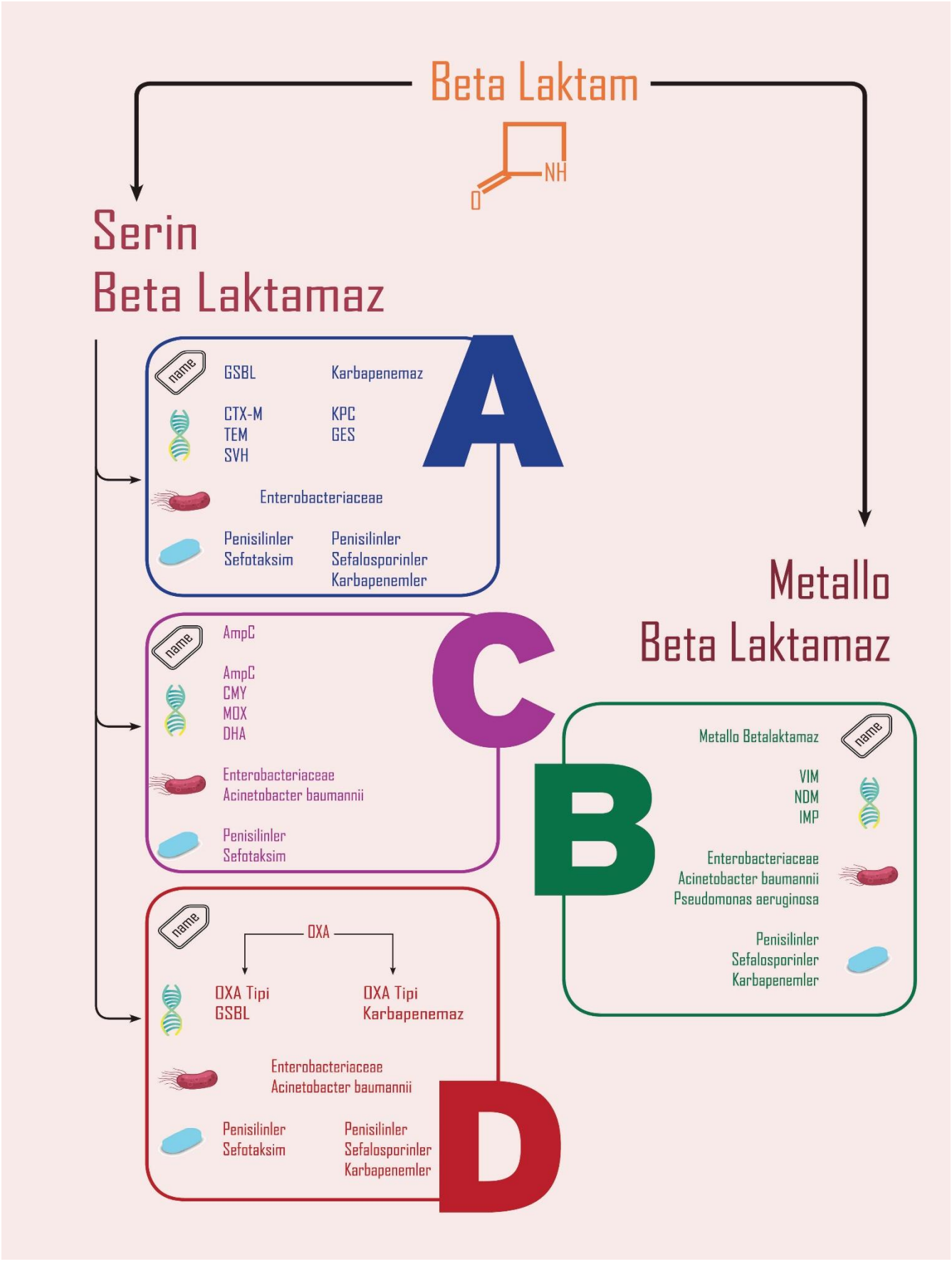
Yapılarında çift beta laktam halkası bulundururular. Böylece birçok beta laktamaz enzimine karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Bu yapılarına rağmen birçok gram negatif bakteride karbapenemlere karşı direnç gelişmiştir. Özellikle *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumanii* de bu direnç gözlenmiştir. Yapısı farklı olduğu için karbapenemlere karşı üretilem beta laktamaz enzimlerine karbapenemaz adı verilmektedir (Probst-Kepper, M ve ark. 2016).

2.1.1.4. Monobaktamlar

Tek bir beta laktam halkasından oluşan, yan zincirleri bulunmayan antibiyotiktir. Tek bir üyesi vardır (Aztreonam). Sadece aerob Gram negatif bakterilere karşı etkilidir (Pandey N. ve ark. 2021).

2.1.1.5. Beta Laktamaz İnhibitörleri

Taşınabilir $bla_{\text{TEM-1}}$ geninin varlığının saptanması ile birlikte beta laktamaz enzimlerinin inhibisonu için araştırmalar da başlamış oldu (Ashford ve ark. 1976). Klavulanik asit, Tazobaktam, Sulbaktam, Avibaktam gibi moleküller keşfedilerek bakterilerin ürettiği beta laktamaz enzimi aktivitesini inhibe etmesi sağlanmıştır. Ayrıca karbapenemlerin etkinliğinin artırılması için henüz deney aşamasında bulunan Relebactam, ve RPX7009'un yanında hala geliştirilme aşamasında bulunan RG6080 en yeni beta laktamaz inhibitörleri olarak bulunmaktadır (Bush ve Bradford 2016).



Şekil 2.1: Beta Laktamazların Sınıflandırılması

2.1.2. Direnç Mekanizmaları

1940'larda antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesinden bu yana, bu ilaç grubu bakteriyel hastalıklara karşı en etkili tedavi seçeneğimiz olmuştur. Antibiyotiklerin paha biçilmez önemine rağmen, gelecekte antibiyotik kullanımımız tehdit altındadır. Tüm antibiyotiklere karşı direncin er ya da geç ortaya çıktığı ve yeni antibiyotik sınıflarının keşfinin çok zor olduğu kanıtlanmış bir gözlemdir (Wright ve Poinar, 2012). Antibiyotiğe dirençli bakterilerin artan tehdidi küçümsenemeyecek kadar önemlidir, çünkü antibiyotik direncinin gelecekteki gelişimini ve yayılmasını kontrol altına alınmazsa ve önlemezse her yıl milyonlarca insan ve hayvanın hayatının tehlikede olduğu yadsınamaz bir gerçektir (Pazda ve ark., 2019). Birçok antibiyotiğe dirençli bakteri ve antibiyotik direnç geni doğada ortaya çıkmış ve çevrede doğal olarak bulunmaktadır (Wright ve Poinar, 2012). Ayrıca, insan ve hayvan dışkılarının kontaminasyonu yoluyla çevreye büyük miktarlarda antibiyotiğe dirençli bakteri ve antibiyotik direnç genleri salındığı tespit edilmiştir (Berendonk ve ark., 2015). Antibiyotiğe dirençli bakterilerin çevrede kalabilme, yayılma ve gelişebilme yeteneğine sahip olduğu ve antibiyotik direnç genlerinin çevrede bulunan diğer bakteri popülasyonlarına geçebileceği öne sürülmüştür. Yaban hayatı, antibiyotiğe dirençli bakteriler tarafından kolonize edilebilir ve bu tür bakteriler için potansiyel bulaşıcı kaynaklar ve rezervuarlar olarak hizmet edebilir (Wellington et al., 2013).

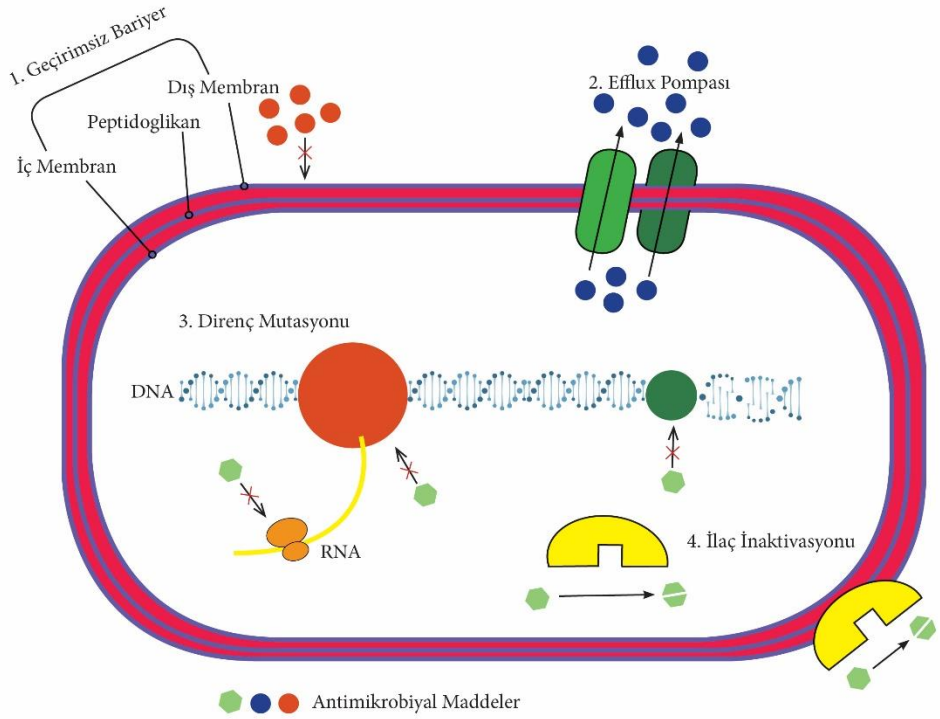
Antibiyotik direnci, bir bakterinin normalde onları öldürecek veya büyümesini durduracak bir antibiyotiğe direnme yeteneği olarak tanımlanmıştır. Antibiyotiklere direnç dört ana strateji ile sağlanır:

i) antibiyotiklere karşı membran geçirgenliğinin azaltılması;

ii) antibiyotiklerin etkisizleştirilmesi;

iii) antibiyotiğin aktif akışı (efflux pompası); ve

iv) hücresel hedeflerin mutasyonu (Peterson, E. ve ark. 2001).



Şekil 2.2: Bakterilerde antimikrobiyal direnç mekanizması

Çoğu antibiyotik doğanın bir ürünüdür ve antibiyotik direnci mikroorganizmalarda doğal olarak meydana gelen bir olgudur (Wright ve Poinar, 2012), bu da bakterilerin milyonlarca yıldır direnç mekanizmalarını geliştirmek ve ince ayar yapmak için zamanları olduğu anlamına gelmektedir. Mutasyonlar ve yatay gen transferi, adaptif evrim veya rastgele genetik sürüklenme yoluyla daha büyük popülasyonda yayılabilen yeni bakteri genotiplerini etkili bir şekilde ortaya çıkarır (Toprak ve ark. 2012). Bakterilerin üreme süresinin kısa olması, popülasyon büyüklüğü ve spontan mutasyon oranının yükseklığı, hızlı ve etkili adaptif evrimi mümkün kılmaktadır (Levin B. Ve ark. 2000). Yabani tip bir *E. coli*'nin duyarlı bir suştan oldukça dirençli bir suşa evrimleşebileceği etkinliği, Boston'daki Harvard Tıp Okulu'ndaki Kishony Laboratuarı'ndan bilim adamları tarafından basit ama dikkate değer bir deneyde gösterilmiştir (Toprak ve ark. 2012). Plakanın ortasına doğru artan antibiyotik konsantrasyonuna sahip çok büyük bir agar plakası üretildi ve antibiyotiğe duyarlı yabani suş üretilen agar plakasındaki besiyerine pasajlandı. Duyarlı saha suşu yalnızca 11 gün içinde, orijinal minimal inhibitör konsantrasyondan (MIC) 3.000 kat daha yüksek bir konsantrasyonda trimetoprim'e karşı fenotipik direnci gösterecek şekilde evrimleşti. Antibiyotik direncinin evrimsel yörüngeleri; bakterilerin mutasyon oranı, direnç mekanizması tarafından ifade edilen direnç, dirençli mutantın uygunluğu ve seçici basıncın gücü gibi pek çok faktörden etkilenmektedir (RJ Fair ve ark. 2014). İnsanlarda, hayvanlarda ve tarımda yüzyıllarca yanlış ve aşırı kullanılmış ticari antibiyotiklerin uyguladığı güçlü seçici baskı, patojen bakterilerde

antibiyotik direnci gelişimini hızlandırmıştır (Yang ve ark. 2018). Yatay gen transferi (HGT), organizmalar arasında genetik bilginin aktarımının bir çeşididir ve antibiyotik direncinin yayılması için çok önemli bir yol olduğu bilinmektedir (Rozwandowicz, M ve ark. 2018). HGT mekanizması aracılığıyla, antibiyotik direnç genleri, bakteri popülasyonu boyunca ve yeni bakteri türlerine yayılabilir (Levin B. ve ark. 2000). HGT üç genetik mekanizma ile oluşur; serbest DNA'nın alınması (doğal transformasyon), bakteriyofaj ile enfekte olmuş bir bakteri ile bakteriyofaj duyarlı bir bakteri arasında bakteriyel DNA'nın transferi (transdüksiyon) ve hareketli genetik elementlerin, bitişik olarak yerleştirilmiş iki bakteri tarafından bir araya getirilen pili yapıları tarafından transferi (konjugasyon) (Toprak ve ark. 2012) Enterobacteriaceae'de plazmitlerin konjugasyonu, direnç genlerinin yayılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Iredell ve ark. 2016).

2.2. Beta Laktamaz Çeşitleri

2.2.1. GSBL Tipi Beta Laktamazlar

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL'ler) genellikle, penisilinlerin yanı sıra bir oksiamino grubu klavulanik asit ve tazobaktam tarafından inhibe edilebilirler. GSBL'ler, çoğunlukla *E. coli* ve *K. pneumoniae* olmak üzere Enterobactericeae ailesinde bulunmuştur. Enterobactericeae olmayan GSBL üreticileri nispeten nadirdir ve *Pseudomonas aeruginosa* en önemli organizmadır (Nordmann P ve ark., 1998; Poirel L ve ark., 2012). GSBL'ler *Acinetobacter spp., Burkholderia cepacia* ve *Alcaligenes fecalis*'te de rapor edilmiştir (Bradford PA, 2001; Poirel L ve ark, 2012; Saha R ve ark., 2010). Birkaç farklı GSBL türü vardır. Eski GSBL'lerin çoğu TEM-1 ve SHV-1'den türetilmiştir (Bradford PA, 2001; Drawz SM ve ark., 2010; Bush K, 2013). TEM-1, Gram negatiflerde ilk plazmit aracılı betalaktamazdı. 1965 yılında Atina, Yunanistan'da Temoniera (dolayısıyla TEM olarak adlandırılmıştır) adlı bir hastaya ait bir *E. coli* izolatından bildirilmiştir (Datta N ve ark., 1965). TEM-1, penisilini ve erken dönem sefalosporinleri hidrolize edebilir. Tüm dünyaya yayılmıştır ve günümüzde Enterobacteriaceae, *P. aeruoginosa, Haemophilus influenzae* ve *Neisseria gonorrhoeae* üyelerinde bulunmaktadır (Livermore DM, 1995). Şimdiye kadar 200'den fazla TEM tipi enzim tanımlanmıştır ve bunların çoğu GSBL üreticisidir (lahey.org/studies). Bununla birlikte, ilk plazmit kodlu GSBL, SHV-1'in bir varyantıdır ve 1983 yılında Almanya'dan bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda bulunmuştur (Jacoby GA, 2006).

Yeni bulunan GSBL türlerinden birisi olan CTX-M (sefotaksimaz) sefotaksime karşı daha güçlü bir hidrolitik aktiviteye sahiptir (Bonet R. Ve ark 2004). CTX-M en yaygın GSBL enzimidir ve köken olarak *Kluyvera spp*. olduğu kabul görmektedir (Bonnet R, 2004; Drawz SM, 2010). Günümüzde, CTX-M ailesi, amino asit dizi kimliklerine göre beş gruba ayrılabilen yaklaşık 141 enzimden oluşmaktadır (Bonnet R, 2004). CTX-M sınıflandırmasının birkaç yolu mevcuttur. R. Bonnet, Arap rakamları kullananları sınıflandırırken (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25). JD Pitout, Romen rakamları kullanılarak sınıflandırmıştır(CTX-M-I, CTX-M-II, CTX-M-III, CTX-M-IV ve CTX-M-V).

- Grup I, CTX-M-1, -3, -10 ila -12, -15 (UOE-1), -22, -23, -28, -29, ve -30.
- Grup II, CTX-M-2, -4 ila -7 ve -20 ve Toho-1.
- Grup III, CTX-M-8.
- Grup IV, CTX-M-9, -13, -14, -16 ila -19, -21 ve -27 ve Toho-2.
- Grup V, CTX-M-25 ve -26'yı içerir.

Toho-1 ve Toho-2, yapısal olarak CTX-M tipi enzimlerle ilişkili beta-laktamazlardır ve sefotaksime karşı benzer hidrolitik aktiviteye sahiptirler (Asma M Al-Jasser, 2006).

2.2.2. AMPC Tipi Beta Laktamazlar

AmpC β-laktamazlar moleküler sınıf C ve fonksiyonel grup 1'de bulunur ve çoğu penisilini, geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize etme yetenekleri ve klavulanik aside direnç göstermeleri ile karakterize edilirler (Baym ve ark., 2016). AmpC β-laktamazlar Enterobacteriaceae familyasına ait birçok bakterinin kromozomunda kodlanmıştır ve kromozomal AmpC aslında 1940 yılında literatürde rapor edilen ilk β-laktamazdır (Abraham ve Chain, 1940). Birçok bakteride indüklenebilirler ve mutasyon aşırı ekspresyona yol açarak sefotaksim ve seftazidim gibi geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı dirence yol açabilir. AmpC genleri, bulaşıcı plazmitlere transfer edilmiştir ve bu nedenle, *E. coli* ve *K. pneumoniae* gibi kromozomal AmpC'yi eksik veya yetersiz eksprese eden bakterilerde görünebilir. Plazmid aracılı AmpC (pAmpC) enzimlerinin saptanması genellikle daha zordur, etki spektrumu daha geniştir ve plazmit aracılı GSBL enzimlerine kıyasla daha az yaygındır, ancak bazı pAmpC enzimleri bazı bölgelerde çiftlik hayvanları ve insanlarda yaygındır. Amino asit dizilimindeki

farklılıklar, farklı pAmpC ailelerine, örneğin FOX, MOX, DHA, MIR, ACT, LAT, ACC ve CMY olarak adlandırılan en yaygın olarak karşılaşılan pAmpC ailelerinin oluşumuna (evrimine) yol açmıştır (Jacoby, 2009).

2.2.3. Karbapenemazlar

Üç moleküler sınıfa ait karbapenemazlar klinik olarak önemli hale gelmiştir: sınıf A (KPC), sınıf B (IMP, VIM, NDM gibi metallo-β-laktamazlar) ve sınıf D (OXA enzimleri) (Bevan ve ark., 2017; Kanj ve Kanafani, 2011; Rossolini ve ark., 2014). KPC, IMP, VIM, NDM ve OXA-48, karbapenemleri hidrolize etme yetenekleri nedeniyle en büyük klinik endişeye neden olan "büyük beş" karbapenemaz ailesi olarak değerlendirilmektedir. Karbapenemler en geniş spektruma sahip olan beta-laktam antibiyotiklerdir ve kritik hastalarda son seçenek antibiyotikler olarak kullanılırlar (Bonardi ve Pitino, 2019). KPC, IMP, VIM ve NDM enzimleri, penisilinleri, geniş spektrumlu sefalosporinleri ve karbapenemleri hidrolize edebilir. KPC'ler genellikle klavulanik asit tarafından inhibe edilirken, IMP'ler, VIM'ler ve NDM'ler klavulonik asit tarafından inhibe olmazlar. NDM-1 genleri sıklıkla diğer birçok direnç genini barındıran plazmitler üzerinde yer alır ve bu da çoğu NDM-1 üreticisini sadece tigesiklin, kolistin ve fosfomisin gibi bir avuç antibiyotiğe duyarlı hale getirir. OXA-48 üreticilerinin direnç profili, bazı geniş spektrumlu sefalosporinleri ve karbapenemleri sadece zayıf bir şekilde hidrolize ettikleri ve bu durum tespit edilmelerini zorlaştırdıkları için özellikle önemlidir. OXA-48 üreticilerinde antibiyotik direnci, bakterilerde GSBL'ler veya geçirgenlik kusurları gibi ek direnç mekanizmaları mevcut olduğunda artar ve tespit edilmeleri de göreli olarak kolaylaşır (Nordmann ve ark., 2012).

2.2.3.1. Enterobactericeae içinde Karbapenemaz üretimi

Ortak floradaki antimikrobiyal direnç ciddi bir tehdittir çünkü bağırsak gibi çok yüksek nüfuslu bir ekosistem AMR için bir rezervuar işlevi görebilir. Antibiyotiğe dirençli bakteriler invaziv enfeksiyonlara neden olabilir, diğer konakçılara yayılabilir veya hareketli genetik elementlerini bağırsaktaki diğer bakterilere aktarabilmektedirler (Round ve Mazmanian, 2009). GSBL üreten Enterobacteriaceae için pozitif dışkı kültürü, bu tür bakterilerin neden olduğu devam eden invaziv enfeksiyonlar için bir risk faktörüdür (Laupland ve Church, 2014; Round ve Mazmanian, 2009). Bu nedenle, toplulukta taşıma, tüm taşıyıcıların enfeksiyon geliştirmesinden uzak olsa da, antibiyotiğe dirençli bakteriler için bir rezervuar işlevi görebilir. Ayrıca, bağırsakta antibiyotiğe dirençli bakterilerin varlığı, çevresel bir tehdittir, çünkü fekal

kirliliğin, antropojenik olarak etkilenen ortamlarda antibiyotik direnç genlerinin bolluğuna önemli bir katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Karkman ve ark., 2019).

2.3. Antibiyotik Direncinin Yayılımı

2.3.1. Beşeri Tıpta Antibiyotik Direnci

Antimikrobiyal ilaçlar doktorlara birçok bulaşıcı hastalığı tedavi etme ve önleme yeteneği sağlamıştır, ancak ne yazık ki artan insan popülasyonu ile antibiyotik tüketiminde çarpıcı bir artış olmuşturAntibiyotik tüketiminin tamamı hekimlerin kontrolü altında değildir. Reçetesiz antimikrobiyal kullanımı dünya çapında görülmekte ve Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika dışında reçetesiz antimikrobiyal kullanımın %19 ila %100 seviyesinde olduğu tahmin edilmektedir (Morgan ve ark., 2011).

İlaca dirençli bakteriler, ilk olarak çoğu antibiyotiğin kullanıldığı hastanelerde ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Penisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, 1940'larda penisilinin kullanıma girmesinden çok kısa bir süre sonra Londra'da bulunan sivil hastanelerde ortaya çıkmıştır. Benzer şekilde, *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı keşfedilen Streptomisin'in kullanımından hemen sonra toplumda streptomisine dirençli *Mycobacterium tuberculosis* varlığı saptanmıştır. Çoklu ilaç direnci enterik bakterilerde ilk olarak, *Escherichia coli*'de tespit edilmiştir.

1950'lerin sonundan 1960'ların başlarına kadar *Shigella* ve *Salmonella* infeksiyonları, son yirmi yılda, MRSA (metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*) ve VRE (vankomisine dirençli enterokoklar), hastane enfeksiyonlarının önemli nedenleri kabul edilmektedir. Son birkaç yılda, hem hastanelerde hem de toplumda antimikrobiyal dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların sıklığı ve spektrumu artmış, bilim adamları, mevcut on yılda çoklu ilaç direncinin, tek ilaça karşı direnci geçersiz kılacağını öngörmektedir. Zaman geçtikçe, farklı antibiyotik sınıflarıyla bağlantılı farklı antibiyotik direnç mekanizmaları ortaya çıkmış ve bazı mekanizmalar birleşmiştir. Çoklu dirençli suşlarla ilgili sorun iki yönlüdür: tedavi edilmeleri çok zordur ve birkaç sınıf antibiyotik kombine kullanılmalıdır. Bu zorluğu sağlayan enzimler, öncelikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL'ler), *Klebsiella pneumoniae* karbapenemazlar (KPC'ler) ve metallo-beta-laktamazlar (MBL'ler) dâhil olmak üzere farklı

beta-laktamaz türleridir. Bu enzimleri taşıyan suşlar, özellikle gelişmekte olan ülkelerde klinik olarak tanı ve tedavileri zorludur ve birçok hayat kaybına neden olur (Zaman ve ark., 2017).

Dirençli suşlar toplumdan hastaneye ve tam tersi şekilde gözlenebilir, bu da ilaç direncinin belirli sınırları olmadığını gösterir. Artan antimikrobiyal kullanımın körüklediği, özellikle antimikrobiyallerin reçetesiz temin edilebildiği gelişmekte olan ülkelerde, farklı bakteriler arasındaki direnç sıklığı artmıştır. Hemen hemen tüm bakteri türlerinde direnç oranları gelişmekte olan ülkelerde, gelişmiş ülkelere göre çok daha yüksektir (Morgan ve ark., 2011).

Dirençli bakteriler, kişiden kişiye, hastaneden hastaneye ve ülkeden ülkeye kolayca hareket eder ve bu durum dirençli bakterilerin hiçbir coğrafi sınır tanımadığını gösterir. Antibiyotiğe dirençli bakterilerin yayılma kapsamı o kadar geniştir ki, uzak Peru Amazonlarındaki sağlıklı insanlar bile en eski antibiyotiklere, yani ampisilin, tetrasiklin, sülfametoksazol ve streptomisin dirençli bakterileri taşıdığı saptanmıştır (Rolain ve ark., 2012). Antibiyotik direncinin yayılmasının nihai sonucu, artan mortalite, morbidite, hastanede kalış süresinin uzaması, daha yüksek tıbbi maliyetler ve ek toksisite olarak görülmektedir.

2.3.2. Veteriner Tıpta Antibiyotik Direnci

Veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımı çiftlik hayvanları, evcil hayvanlar, yaban hayatı ve su ürünleri yetiştiriciliğinde yetiştirilen hayvanlara yöneliktir. Tedavi ve profilaksi dışında, büyüme ve yem verimini artırmak için yasal çerçeveler içerisinde antibiyotikler kullanılabilmektedir. Antibiyotik tüketimine ilişkin tüm veriler kamuya açık değildir, bu da tüketilen miktarların ve hangi amaçlarla kullanıldığının belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Bununla birlikte, ekstrapolasyonlara ve dolaylı yöntemlere dayanarak, 27.5 milyon pound antimikrobiyal maddenin "terapötik olmayan" amaçlarla (büyümeyi teşvik etme ve hastalık profilaksisi) kullanıldığı ve hayvanlarda terapötik amaçlar için 2 milyon pound daha kullanıldığı tahmin edilmektedir (Mellon ve ark., 2001).

2000 yılının Şubat ayında, Hayvan Sağlığı Enstitüsü üyelerinin yaptığı bir araştırmaya göre, 1998 yılında hayvansal üretimde 17,8 milyon pound antimikrobiyal kullanılmış; Hastalığın önlenmesi ve tedavisi için 14,7 milyon sterlin (%83) ve büyümenin teşviki için 3,1 milyon sterlin (%17) harcanmıştır (Animal Health Institute, 2000). Dokuz sınıf antibiyotik özellikle hayvanlarda kullanılmaktadır (Page ve Gautier, 2012), ancak hem veteriner hem de

insan tıbbında yaygın olarak birkaç sınıf reçete edilmektedir: penisilinler, sefalosporinler, tetrasiklinler, kloramfenikoller, aminoglikozitler, makrolidler, nitrofuranlar, nitroimidazoller, sülfonamidler, trimetoprim, polimiksinler ve kinolonlar sıklıkla reçete edilen antibiyotik sınıflarıdır (Giguère ve ark., 2013). Bununla birlikte, hayvanlar ve insanlar arasında antibiyotik direncinin seçimi ve yayılması ile ilgili endişeler, "kritik öneme sahip insan antimikrobiyal ajanları" kavramına yol açmıştır. Bu ajanların, insan kullanımı için ayrılması gerektiği kabul görmektedir.

Penisilinler, tetrasiklinler, makroilidler ve aminoglikozitler 50 yılı aşkın süredir en sık kullanılan antibiyotiklerdir (Page & Gautier, 2012). Sığır mastiti, buzağılarda pnömoni, ineklerde metritis ve domuzlarda erizipel genellikle penisilinlerle tedavi edilir. Streptomisin, domuzlarda mastitis, leptospirosis, pnömoni, intrauterin enfeksiyonlar ve dizanteri tedavisinde faydalı olmuştur. Tetrasiklinler, sığır pnömonisi, ayak çürüğü, metritis, koyun ve keçilerde mastitis, domuz ve buzağılarda ovma ve kümes hayvanlarında kolibasilloz ve pastöreloz gibi çeşitli hastalıkların profilaksisinde ve tedavisinde önemli ve başarılı bir rol oynamıştır. Birkaç çalışma, en yüksek antibiyotik direnci sıklığının ve seleksiyon baskısının buzağı, domuz ve kümes hayvanlarının işlenmelerinde meydana geldiğini göstermiştir (Animal Health Institute, 2000). Beşeri tıpta, antibiyotik tedavi stratejisi hastanın bireysel sağlık durumuna dayanmaktadır. Veteriner hekimlikte, evcil hayvanlar ve atlar dışında, hayvan sürüsü veya sürüsüne çok daha fazla dikkat edilir. Bu özellikle yaş veya cinsiyete göre gruplar halinde tutulan üretim hayvanları için geçerlidir. 2005 yılında OIE (Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü) tarafından yayınlanan bir araştırma, bazı ülkelerde hayvanlarda antimikrobiyal ajanların kullanımını kontrol eden hiçbir düzenlemeye sahip olmadığını ortaya koydu. Bununla birlikte, ülkelerin çoğunda veteriner ilaçlarının onaylanması ve kullanımını düzenleyen yasa ve yönetmelikler bulunmaktadır (Sarmah ve ark., 2006). Amerika Birleşik Devletleri gibi gelişmiş ülkelerde bile, pek çok antibiyotik, hayvan yetiştiricileri tarafından reçetesiz olarak kolayca temin edilebilmektedir. Şüphesiz, veteriner hekimlikte antimikrobiyal ajanların tanıtılması ve kullanılması, hayvan türlerinin sağlığı ve refahı üzerinde çok büyük bir etkiye sahiptir ve hala etkin şekilde kullanılmaktadır.

Antibiyotik direnci, hayvan türlerinin sayısı, yetiştirme ortamlarının çeşitliliği, patojenite mekanizmalarının çeşitliliğindeki farklılıklar ve karmaşık epidemiyoloji nedeniyle özellikle veteriner hekimlikte karmaşık bir olgudur (Smith DL ve ark., 2002). Antimikrobiyal

direnç hayvan sağlığı için bir endişe olmasına rağmen, bu sorunun büyüklüğü hakkında çok az şey bilinmektedir. (Cote S ve ark.,1991, Noble WC ve ark., 1992, Lathers ve ark. 2001).

Hayvanlar, tedavi edici olmayan dozlarda antimikrobiyallerle tedavi edilirse, dirençli bakterilerin uzun süreli fekal gölgelenmesi meydana gelebilir. Genel olarak, direncin çeşitliliği ve büyüklüğü, farklı coğrafi bölgelerdeki hayvan patojenleri arasında oldukça değişkendir (Koch ve ark. 2017). Hayvanlarda antibiyotik kullanımı, dirençli bakterilerin hayvanlar arasında, sürüler arasında ve ayrıca ülkeler arasında seçilmesine ve yayılmasına katkıda bulunur (Sarmah ve ark., 2006). Dirençli bakteriler hayvanlardan insanlara doğrudan temas, hayvansal ürünlerin tüketimi gibi yollarla bulaşabilir ve nihayetinde çevre ve su temini sağlayan alanlar kontamine olabilir (Smith ve ark., 2002, Aminov ve Mackie, 2007, Davies ve ark., 2007, Berendonk ve ark., 2015, Koch ve ark., 2017).

2.3.3. Deniz Canlılarında Antibiyotik Direnci

Su ürünleri yetiştiriciliği, karides ve pangasius üretiminin popüler hale gelmesiyle birlikte özellikle birçok Asya ülkesini, dünya çapında önemli gıda tedarikçisi haline getirmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliği günümüzde en hızlı büyüyen hayvansal gıda sektörü durumundadır. (FAO, 2012).

Tetrasiklinler, makrolidler, kinolonlar, sülfonamidler, nitrofuranlar, kloramfenikol, çoğu Güneydoğu Asya ülkesinde su ürünleri yetiştiriciliğinde büyümeyi teşvik etmek ve bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek veya önlemek için sıklıkla uygulanmaktadır (Done et al., 2015).

Su kültürü ortamlarında spesifik antimikrobiyallerin kullanımı ile su ortamında antimikrobiyal dirençli bakterilerdeki artışlar arasında iyi kurulmuş bir ilişki vardır (Shao ve ark., 2021). Su ürünleri yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı, balık bağırsaklarında, su ortamında (Zhao ve ark., 2021) ve insan patojenlerinde antimikrobiyal direnç seviyesinin artmasına doğrudan katkıda bulunabilir (Serrano ve ark., 2005). Gelişmekte olan ülkelerde, su kültürü ortamında diğer hayvanlar, genellikle tavuklar ve domuzlar, balık havuzlarının üzerinde veya bitişiğindeki kafeslerde tutulur. Bu sayede, hayvan gübresi, inorganik besinlerin salınımının fotosentetik organizmaların büyümesini desteklediği, balık havuzlarına atılır. Havuzda yetiştirilen balıklar da bu atık ürünleri tüketirler. Tavuklar ve domuzlar, GSBL üretenler de dahil olmak üzere dirençli bakterileri taşıyabilmektedir. Bu şekildeki besleme

yöntemlerinde yüksek bir direnç frekansı oluşur ve çiftlik hayvanlarından balıklara ve diğer su ürünlerine dirençli bakteriler dolayısıyla direnç mekanızmaları aktarılır. Sonuç olarak, kültür balıkçılığı üretimi, çoklu dirençli bakteriler için bir rezervuar görevi görebilir ve direnç genlerinin yayılmasını kolaylaştırabilir (Koch ve ark., 2017).

2.3.4. Çevre ve Yaban Hayatta Antibiyotik Direnci

GSBL üreten *E. coli,* çevrede ve vahşi yaşamda çoklu dirençli bakterilerin evrimini izlemek için sıklıkla kullanılmaktadır. GSBL üreten *E. coli* izolatlarının farklı ekolojik ortamlara nasıl girdiği açık olmasa da, insanların klinik ortamlarında GSBL üreten *E. coli* 'nin ilk salgınından yaklaşık yirmi yıl sonra çevrede var olduğu gözlenmiştir (Kitzis MD, 1988; Bauernfeind A. , 1989; Costa D, 2006). Bunun, antimikrobiyallerin doğal ortamlarda yanlış kullanımının bir sonucu olmaktan ziyade, insan faaliyetlerinden kaynaklanan çevre kirliliğinin yayılma şekli olması muhtemeldir (Arpin C. ve ark., 2005, Pitout J.D. ve ark., 2005, Martinez ve ark., 2009).

GSBL ile ilgili çoğu çalışma. *E. coli,* hayvan ve insan yoğunluğunun çok yüksek olduğu Avrupa'da özllikle yaban hayatının bulunduğu bölgelerde yapılmıştır. Yaban hayatı ile insanlar ve faaliyetleri arasındaki sık etkileşim nedeniyle, yaban hayatında dirençli bakterilerin bulaşması ve üremesine neden olmaktadır (Allen H.K. ve ark., 2010). Bunun etkisi ile, antibiyotiğe dirençli bakterilerin bolluğu ile vahşi yaşamın insan faaliyetleri ile etkileşimi arasında güçlü bir ilişki var olduğu saptanmıştır (Skurnik D. ve ark., 2006).

Bununla birlikte, uzak yerlerde veya el değmemiş alanlarda bile, bu etkileşimler gerçekleşebildiği görülmüştür, bu da GSBL üreten E.coli izolatlarının herhangi bir önleyici tedbir alınmaması durumunda kolaylıkla yayılabileceğini göstermektedir. Özellikle insanların dışkılarıyla gezegenin çeşitli ekolojik ortamlarının ne kadar etkilediği göz önüne alındığında, insan atıklarının berterafı önemli bir konu olmaktadır (Sjölund M. ve ark., 2008; Hernandez J. ve ark., 2010; Pinto L ve ark., 2010).

Çok sayıda yabani hayvan türünün GSBL üreten *E. coli*'nin saçıcıları olduğu belgelenmiştir. Bu canlıların büyük bir bölümünü kemirgenler ve kuşlar oluşturmaktadır (Guenther S, 2011). Elde edilen veriler, su kuşlarından yırtıcı kuşlara kadar her çeşit kuşta bu yayılmanın bulunduğunu göstermektedir (Poeta P. ve ark., 2008, Bonnedahl J. ve ark., 2010, Dolejska M ve ark., 2009, Hernandez J. ve ark., 2010, Literak I ve ark., 2007, 2010, Simoes ve

ark., 2010, Garmyn A ve ark., 2011, Wallensten A. ve ark., 2011, Costa D. ve ark, 2006; Pinto L. ve ark, 2010).

Vahşi yaşamda çoklu ilaca dirençli patojenlerin tespiti yeni bir fenomen olarak görülse de, on yıllar önce herhangi bir antimikrobiyal baskıdan arınmış çevresel numunelerde dirençli toprak organizmalarından başka dirençli bakteriler bulunduğundan beklenmedik bir sonuç olarak görülmemelidir (Sato G. Ve ark., 1978, Kanai H. Ve ark. 1981, Hughes VM ve ark., 1983, Tsubokura M ve ark., 1995).

Bu gibi veriler ışığında, çevredeki antibiyotik direncinin eski ve her yerde olduğu sonucuna varılabilir, ancak insan faaliyetlerinin eklenmesi antimikrobiyal direnç gelişimini hızlandırmış ve daha tehlikeli hale getirmiştir.

2.3.4.1. Yabani Kuşlarda Antibiyotik Direnci

Son on yılda, doğal rezervuarlardaki ve vahşi yaşamdaki antibiyotiğe dirençli bakteriler, bilim camiasından artan bir ilgi görmüştür. Yaban hayatında antibiyotiğe dirençli bakteri kolonizasyonunun ve bunun sonucunda çevrenin kontaminasyonunun oluşturduğu potansiyel risk kabul edilmiştir (Wang ve ark., 2017). İnsanlarda ortaya çıkan bulaşıcı hastalıkların çoğunluğunun bir yaban hayatı rezervuarı olduğuna (Watts ve ark., 2015) ve antibiyotiğe dirençli bakterilerin yaban hayatından/çevreden mahsullere, insanlara ve evcil hayvanlara potansiyel transferinin ihmal edilmemesi gerektiğine inanılmaktadır (Wang ve ark., 2017).

2.4. Kuşlarda Göç

Kuşlarda göç, üremek ve kışı geçirmek için kullandıkları alanlar arasındaki düzenli hareket olarak tanımlanmaktadır (Moreau 1972). Uzun yıllar boyunca kuş göçleri tam olarak bilinmemekteydi. 1822 yılının Mayıs ayında Almanya'nın Mecklenburg bölgesinde yaşayan Kont Christian Ludwig von Bothmer, evinin çatısında boynunda ok bulunan bir leyleği yakalamış, yapılan çalışma ile boynundakinin bir mızrak olduğu ve mızrağın sahara altı bölgeye ait bir kabileye ait olduğu belirlenmişti. Oklu leylek (Alm. Pfeilstroch) sayesinde ilk kez kuşların göç ile Afrika'ya gittikleri ve Avrupa'ya geri döndükleri belirlenmiş oldu. Sonrasında oklu leylek içi doldurularak Rostock Üniversitesinde sergilenmektedir (Lee, 2021).

Kuşlar yaptıkları göçlere göre sınıflandırılmaktadır;

- **Yıllık göçmen kuşla**r, Üreme ve kışlama bölgeleri arasında yıllık göç yapan kuşlar bu sınıfta değerlendirilir.

- **Kısmi göçmen kuşlar**, Fakültatif göçmenler de olarak isim verilen bu sınıf, üreme bölgesinden göç eden ve etmeyen türleri kapsar. Bu tür içindeki kuşlar üreme zamanlarını göçmen, kalan süreyi ise bölgesel olarak geçirirler.

- **Diferansiyel göçmen kuşlar**, Mevsime bağlı olmayan, yaş, cinsiyet ya da ırka bağlı olarak göçmen davranış gösteren kuşlardır (Terrill ve Able 1988).

2.5. Türkiye'deki Göç Yolları

Avrupa'da görülen kuş türlerinin göç ederken kullandığı üç ana göç yolu vardır. Bunlardan ilki İber Yarımadası'ndan kuzey/kuzeybatı Afrika'ya, ikincisi İtalya ve Sardinya'yı geçerek kuzey ve orta Afrika'ya, üçüncüsü ise Balkanlar, Karadeniz ve Anadolu'yu takip ederek Doğu ve Kuzey Afrika'ya uzanmaktadır. Bu göç yolları göz önüne alındığında Türkiye bu göç yollarının kesiştiği stratejik bir konumda yer aldığından göçmen kuşlara kısa süreliğine de olsa ev sahipliği yapmaktadır. Özbahar ve Gül 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada, sonbahar aylarında kuzeyden güneye göç eden pelikan, leylek ve bazı yırtıcılar (süzülen kuşlar) gibi iri sayılabilecek kuşların ve arı kuşlarının İstanbul boğazı ve Çanakkale boğazı, Artvin (Arhavi, Borçka) üzerinden ülkemize giriş yaptıktan sonra Anadolu'ya yayıldıklarını ve Hatay (Belen Geçidi) üzerinde birleşerek ülkemizi terk ettiklerini belirtmişlerdir. İlkbahar mevsiminde ise bu yolun tersini izlemektedirler. Bu göç yolları uzun gözlemler sonucunda tespit edilmiştir ancak bu göç yollarının dışında, ötücü kuşlar gibi cephe göçü yapan göçmenlerin de izlediği alternatif yolların olduğu da düşünülmektedir (Kiziroglu ve ark., 2011).

3. YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Örnekler

Çalışmada Kasım 2017 ve Eylül 2019 tarihleri arasında, Marmara bölgesinde doğada yerleşik olarak yaşayan, ayrıca göç sırasında göç yolu üzerinde beslenme ve geceleme için konaklayan ya da belli bir zaman dilimini geçirmek amacıyla gelen göçmen kuşlardan ve rehabilitasyon merkezlerinden kliniklere tedavi amaçlı getirilen yabani kuşlardan noninvaziv yöntemlerle alınan toplam 272 taze dışkı incelendi. Çalışma için örnek büyüklüğü % 50 tahmini prevalans üzerinden %90 güven düzeyi ve %5 mutlak kesinliğe göre belirlendi. Çalışmada alınacak örnekler yabani kuşların yerleşik olarak yaşamalarına, göçmelerine ve göçme dönemlerine göre ayrılarak gruplandırıldı

Örnekler, çalışmanın planlanması aşamasında dört grup olarak belirlendi. Her bir grup 68 adet örnek içerecek şekilde sınıflandırıldı.

Grup 1 - Marmara bölgesinde yerleşik "yabani su kuşları" (karabatak, martı, gri balıkçıl gibi denizlerde ve göllerde, insanlarla birlikte yaşayanlar)

Grup 2 - Marmara bölgesinde yerleşik "yabani karakuşları" (Kumru, güvercin, karga, serçe gibi şehirlerde yaşayanlar)

Grup 3 - Marmara bölgesinde periyodik olarak konaklayan "Kış Göçmenleri" (Şubat ayına kadar ülkemizde bulunan kuşlar)

Grup 4 - Marmara bölgesinde periyodik konaklayan "Yaz Göçmenleri" (İlkbaharda gelen kuşlar)

3.1.2. Örneklerin Alınması

Yabani kuşlardan dışkı örneklerinin toplanması sırasında hayvanlarda mümkün olan en az akut stresin oluşturulmasına dikkat edildi. Çeşitli nedenlerle özel veteriner klinikleri ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi (VYRM)'ye ulaştırılan hayvanların muayene, bakım, rehabilitasyon ya da tedavileri sırasında yapmış oldukları taze dışkıları alınarak toplandı.

İstanbul iline bağlı ilçelerde bulunan korularda 06:00-07:00 ve 18:00-19:00 saatleri arası büyük gruplar halinde toplanan kuşlardan dışkıları yaptıkları anda toplandı. Manyas kuş cennetinde sorumlu veterinerler gözetiminde vahşi su kuşları takip edilerek karaya çıktıkları zaman yaptıkları taze dışkıları toplandı. Marmara bölgesinde sahil bölgelerinde kurulu olan çeşitli ticari işletmelere ait binaların çatılarında yuvalanmış sucul kuşlar tespit ve takip edilerek dışkıladıkları anda örneklemeler gerçekleştirildi. Örnekler ve örneklerin alındığı hayvanlara ait fenotipik ve demografik veriler tablo 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4'te özetlendi.

Örnekler Cary-Blair taşıyıcı besiyeri (İzolab, 08602001) içeren steril svablar kullanılarak alındı. Gerçekleştirilen örneklemeler ve ait oldukları hayvanların demografik bilgileri kayıt altına alındı. Alınan örnekler 2-4 saat içerisinde soğuk zincirde tutularak İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına ulaştırıldı. Toplanan örneklerin izolasyon çalışmaları bekletilmeden yapıldı.

Tablo 3.1: Marmara bölgesinde yerleşik "yabani deniz kuşları" (karabatak, martı, gri balıkçıl gibi denizlerde ve göllerde, insanlarla birlikte yaşayanlar)'na ait bilgiler (Grup 1)

Örnek No	Hayvan Türü/Cinsi	Latince Adı	Alındığı Yer
1	Sukılavuzu	*Rallus aquaticus*	VYRM
4	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
16	Küçük Martı	*Hydrocoloeus minutus*	VYRM
17	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
18	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
19	Bahri kuşu	*Podiceps cristatus*	VYRM
20	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
21	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
22	Küçük Martı	*Hydrocoloeus minutus*	VYRM
26	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
27	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
28	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
30	Balaban	*Botaurus stellaris*	VYRM
34	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
38	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
41	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
42	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
43	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
44	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
45	Küçük Martı	*Hydrocoloeus minutus*	VYRM
46	Gri Balıkçıl	*Ardea cinerea*	VYRM
47	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
51	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
52	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
53	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
66	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
67	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
68	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
69	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
70	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
71	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
74	Küçük Martı	*Hydrocoloeus minutus*	VYRM
76	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
79	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
83	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
84	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
85	Martı	*Larus argentatus*	VYRM

VRYM: Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi

Tablo 3.1: (Devam): Marmara bölgesinde yerleşik "yabani deniz kuşları" (karabatak, martı, gri balıkçıl gibi denizlerde ve göllerde, insanlarla birlikte yaşayanlar)'na ait bilgiler (Grup 1)

86	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
91	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
92	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
93	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
94	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
95	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
98	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
101	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
102	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
108	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
109	Küçük Martı	*Hydrocoloeus minutus*	VYRM
111	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
116	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
124	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
126	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
127	Küçük Martı	*Hydrocoloeus minutus*	VYRM
140	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
141	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
143	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
146	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
150	Gri Balıkçıl	*Ardea cinerea*	VYRM
151	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
152	Balaban	*Botaurus stellaris*	VYRM
188	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
189	Martı	*Larus argentatus*	VYRM
199	Gri Balıkçıl	*Ardea cinerea*	VYRM
200	Balaban	*Botaurus stellaris*	VYRM
201	Balaban	*Botaurus stellaris*	VYRM
202	Küçük Martı	*Hydrocoloeus minutus*	VYRM
203	Küçük Martı	*Hydrocoloeus minutus*	VYRM
210	Martı	*Larus argentatus*	VYRM

VRYM: Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi

Tablo 3.2: Marmara bölgesinde yerleşik "yabani karakuşları" (Kumru, güvercin, karga, serçe gibi şehirlerde yaşayanlar)'na ait bilgiler (Grup 2)

Örnek No	Hayvan Türü/Cinsi	Latince Adı	Alındığı Yer
3	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
5	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
8	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
9	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
10	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
12	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
13	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
14	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
15	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
25	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
32	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
33	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
35	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
37	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
39	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
48	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
50	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
54	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
56	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
57	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
58	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
60	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
61	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
62	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
63	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
64	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
65	Karga	*Corvus corone*	VYRM
73	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
78	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
81	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
87	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
88	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
89	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
90	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
96	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
97	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
99	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
100	Karga	*Corvus corone*	VYRM
103	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
104	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM

VRYM: Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi

Tablo 3.2: (Devam): Marmara bölgesinde yerleşik "yabani karakuşları" (Kumru, güvercin, karga, serçe gibi şehirlerde yaşayanlar)'na ait bilgiler (Grup 2)

105	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
106	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
107	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
110	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
112	Kumru	*Streptopelia bonaparte*	VYRM
117	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
119	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
120	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
128	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
129	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
132	Saksağan	*Pica pica*	VYRM
136	Karga	*Corvus corone*	VYRM
142	Karga	*Corvus corone*	VYRM
144	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
145	Güvercin	*Carduelis carduelis*	VYRM
167	Karga	*Corvus corone*	Beylikdüzü
168	Karga	*Corvus corone*	Beylikdüzü
169	Karga	*Corvus corone*	Beylikdüzü
191	Saksağan	*Pica pica*	Beylikdüzü
192	Saksağan	*Pica pica*	Beylikdüzü
193	Saksağan	*Pica pica*	Beylikdüzü
194	Saksağan	*Pica pica*	Beylikdüzü
195	Saksağan	*Pica pica*	Beylikdüzü
213	Karga	*Corvus corone*	Avcılar
214	Karga	*Corvus corone*	Avcılar
215	Karga	*Corvus corone*	Avcılar
223	Karga	*Corvus corone*	Kadıköy
224	Karga	*Corvus corone*	Kadıköy

VRYM: Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi

Tablo 3.3: Marmara bölgesinde periyodik olarak konaklayan "kış göçmenleri" (Şubat ayına kadar ülkemizde bulunan ve yerli olarak yaşayan kuşlar)'ne ait bilgiler (Grup 3).

Örnek No	Hayvan Türü/Cinsi	Latince Adı	Alındığı Yer
2	Çulluk	*Scolopax rustica*	VYRM
6	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
7	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
11	Çulluk	*Scolopax rustica*	VYRM
23	Kukumav	*Athene noctua*	VYRM
24	Alaca Baykuş	*Strix aluco*	VYRM
29	Kerkenez	*Falco tinnunculus*	VYRM
31	Arı Şahini	*Pernis apivorus*	VYRM
36	Kukumav	*Athene noctua*	VYRM
49	Kulaklı Baykuş	*Asio otus*	VYRM
55	Ak Karınlı Ebabil	*Tachymarptis melba*	VYRM
59	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
72	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
75	Arı Şahini	*Pernis apivorus*	VYRM
77	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
80	Yılan Kartalı	*Circaetus gallicus*	VYRM
82	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
113	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
114	Kır Baykuşu	*Asio flammeus*	VYRM
115	Arı Şahini	*Pernis apivorus*	VYRM
118	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
121	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
122	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
123	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
130	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
131	Kır Baykuşu	*Asio flammeus*	VYRM
135	Delice Doğan	*Falco subbuteo*	Veteriner Kliniği
181	Peçeli Baykuş	*Tyto alba*	VYRM
182	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
183	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
184	Peçeli Baykuş	*Tyto alba*	VYRM
185	Kır Baykuşu	*Asio flammeus*	VYRM
186	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
187	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
190	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
211	Çulluk	*Scolopax rustica*	VYRM
212	Çulluk	*Scolopax rustica*	VYRM
216	Arı Şahini	*Pernis apivorus*	VYRM
217	Arı Şahini	*Pernis apivorus*	VYRM

VRYM: Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi

Tablo 3.3: (Devam) Marmara bölgesinde periyodik olarak konaklayan "kış göçmenleri" (Şubat ayına kadar ülkemizde bulunan ve yerli olarak yaşayan kuşlar)'ne ait bilgiler (Grup 3).

218	Kukumav	*Athene noctua*	VYRM
219	Kulaklı Baykuş	*Asio otus*	VYRM
221	Çulluk	*Scolopax rustica*	VYRM
222	Çulluk	*Scolopax rustica*	VYRM
225	Yılan Kartalı	*Circaetus gallicus*	VYRM
229	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
232	Şahin	*Buteo buteo*	VYRM
233	Arı Şahini	*Pernis apivorus*	VYRM
234	Arı Şahini	*Pernis apivorus*	VYRM
235	Kerkenez	*Falco tinnunculus*	VYRM
236	Kerkenez	*Falco tinnunculus*	VYRM
237	Kukumav	*Athene noctua*	VYRM
238	Arı Şahini	*Pernis apivorus*	VYRM
239	Peçeli Baykuş	*Tyto alba*	VYRM
240	Peçeli Baykuş	*Tyto alba*	VYRM
243	Kır Baykuşu	*Asio flammeus*	VYRM
244	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
245	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
246	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
247	Ak Karınlı Ebabil	*Tachymarptis melba*	VYRM
250	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
251	Kerkenez	*Falco tinnunculus*	VYRM
252	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
253	Kukumav	*Athene noctua*	VYRM
255	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
258	Atmaca	*Accipiter nisus*	VYRM
262	Kır Baykuşu	*Asio flammeus*	VYRM
266	Peçeli Baykuş	*Tyto alba*	VYRM
267	Peçeli Baykuş	*Tyto alba*	VYRM

VRYM: Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi

Tablo 3.4: Marmara bölgesinde periyodik konaklayan "Yaz Göçmenleri" (İlkbaharda gelen kuşlar ve küçük ötücüler)'ne ait bilgiler (Grup 4)

Örnek no	Hayvan Türü/Cinsi	Latince Adı	Alındığı Yer
40	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	VYRM
125	Leylek	*Ciconia ciconia*	VYRM
133	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
134	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
137	Leylek	*Ciconia ciconia*	VYRM
138	Leylek	*Ciconia ciconia*	VYRM
139	Leylek	*Ciconia ciconia*	VYRM
147	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
148	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
149	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
153	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
154	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
155	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
156	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
157	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
158	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
159	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
160	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
161	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
162	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
163	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
164	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
165	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
166	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
170	Tepeli Pelikan	*Pelecanus crispus*	Manyas
171	Tepeli Pelikan	*Pelecanus crispus*	Manyas
172	Tepeli Pelikan	*Pelecanus crispus*	Manyas
173	Tepeli Pelikan	*Pelecanus crispus*	Manyas
174	Tepeli Pelikan	*Pelecanus crispus*	Manyas
175	Tepeli Pelikan	*Pelecanus crispus*	Manyas
176	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
177	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
178	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
179	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
180	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
196	Kır Kırlangıcı	*Hirundo rustica*	VYRM
197	İspinoz	*Fringilla coelebs*	VYRM
198	İspinoz	*Fringilla coelebs*	VYRM
204	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Ormanlı

VRYM: Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi

Tablo 3.4: (Devamı) Marmara bölgesinde periyodik konaklayan "Yaz Göçmenleri" (İlkbaharda gelen kuşlar ve küçük ötücüler)'ne ait bilgiler

205	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
206	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
207	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
208	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Ormanlı
209	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Ormanlı
220	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
226	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
227	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
228	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
230	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
231	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Beylikdüzü
241	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
242	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
248	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
249	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
254	Küçük Karabatak	*Microcarbo pygmeus*	Manyas
256	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
257	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
259	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
260	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
261	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
263	Alaca Balıkçıl	*Ardeola ralloides*	Manyas
264	Çeltikçi Kuşu	*Plegadis falcinellus*	Manyas
265	Çeltikçi Kuşu	*Plegadis falcinellus*	Manyas
268	Çeltikçi Kuşu	*Plegadis falcinellus*	Manyas
269	Çeltikçi Kuşu	*Plegadis falcinellus*	Manyas
270	Leylek	*Ciconia ciconia*	VYRM
271	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Veteriner Kliniği
272	Sığırcık	*Strunus vulgaris*	Veteriner Kliniği

VRYM: Vahşi Yaşam Rehabilitasyon Merkezi



Şekil 3.1: Balaban (*Botaurus stellaris*)



Şekil 3.2: Çulluk (*Scolopax rustica*)



Şekil 3.3: Kukumav (*Athene noctua*)



Şekil 3.4: Alaca Baykuş (*Strix aluco)*



Şekil 3.5: Kulaklı Orman Baykuşu (*Asio otus*)



Şekil 3.6: Yılan Kartalı (*Circaetus gallicus*)



Şekil 3.7: Atmaca (*Accipiter nisus*)



Şekil 3.8: Kır Kırlangıcı (*Hirundo rustica*)

Tablo 3.5: Toplanan örneklerin hayvan türü ve/veya cinsine göre sayıları

Kaynak	Tür/cins	sayı	toplam
Grup 1			
Marmara bölgesinde yerleşik "yabani deniz kuşları" (karabakatak, martı, gri balıkçıl gibi denizlerde ve göllerde insanlarla birlikte yaşayanlar)	Martı	59 (51 martı, 8 Küçük martı)	**68**
	Gri Balıkçıl	3	
	Bahri Kuşu	1	
	Balaban	4	
	Su Kılavuzu	1	
Grup 2			
Marmara bölgesinde yerleşik) "yabani karakuşları" (kumru, güvercin, karga, serçe gibi şehirde yaşayanlar)	Güvercin	38	**68**
	Kumru	12	
	Karga	12	
	Saksağan	6	
Grup 3			
Marmara bölgesinde periyodik olarak konaklayan "Kış Göçmenleri" (Şubat ayına kadar ülkemizde bulunan kuşlar)	Atmaca	16	**68**
	Şahin	10	
	Arı Şahini	8	
	Çulluk	6	
	Baykuş(Alaca, Kulaklı, Kır, Peçeli)	14 (1+2+5+6)	
	Kerkenez	4	
	Yılan Kartalı	2	
	Kumkumav	5	
	Ak Karınlı Ebabil	2	
	Delice Doğan	1	
Grup 4			
Marmara bölgesinde periyodik konaklayan "Yaz Göçmenleri" (İlkbaharda gelen kuşlar)	Sığırcık	24	**68**
	Küçük Karabatak	14	
	Leylek	5	
	Tepeli Pelikan	6	
	İspinoz	2	
	Alaca Balıkçıl	12	
	Çeltikçi Kuşu	4	
	Kır Kırlangıcı	1	

3.1.3. Besiyerleri

GSBL üreten *E.coli* izolasyonu için Triptic Soy Broth (TSB) (HiMedia, M011), MacConkey agar (HiMedia M081B), sefotaksim (1 mg/L) (HiMedia, SD040) katkılı MacConkey agar; şüpheli izolatların identifikasyonu için Simmons Citrate agar (Merck 1.02501), Nutrient buyyon (Merck, 1.05443), Metil kırmızısı (MR)-Voges-Proskauer (VP) buyyon (Merck, 1.05712), Üre agar (Oxoid, CM0053) ve Urea solüsyonu (Oxoid SR0020), Triple Sugar Iron agar (TSIA) (Oxoid, CM0277) ve Karbonhidrat fermantasyon test besiyerleri antibiyotik duyarlılığı için Mueller-Hinton agar (MHA) (HiMedia M173) kullanıldı.

3.1.3.1. Sefotaksim Sodyum Tuzu katkılı MacConkey Agar

Genişlemiş beta laktam dirençli izolatların seçilmesinde kullanılmak için Gram negatif bakteriler için seçici-ayırıcı bir besi yeri olan MacConkey agar besiyeri içerisine 1 mg/L son konsantrasyonunda katıldı (EFSA,2011). Hazırlanan besiyerleri 4°C de saklandı.

3.1.3.2. Karbonhidrat Fermantasyon Besiyeri

Proteaz Peptone (Himedia RM005) 5 gr; Sodium Chloride (Merck 6400) 2,5 gr; Bromocresol purple (Sigma B-5880) 0,008 gr; 500 ml distile su (pH 6.8±0,2 25°C) içinde çözdürüldü, 2’ şer ml olacak şekilde tüplere dağıtıldı. 121°C’de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Hazırlanan temel besiyerine son konsantrasyon %0,5 olacak şekilde arabinose, fructose, glucose, inositol, inulin, lactose, maltose, mannitol, mannose, inositol, raffinose, ribose, sorbitol, sucrose ilave edilerek karbonhidrat fermentasyon besiyeri olarak kullanıldı. Hazırlanan besiyerleri 4°C de saklandı.

3.1.3.3. Biyokimyasal Testler için Kullanılan Ayıraçlar

Biyokimyasal testlerde %3 Hidrojen peroksit solüsyonu (Merck 108600), Oksidaz İdentifikasyon Stikleri (Merck 08168), Kovaks ayıracı (isoamyl alkol (Merck M100979), P-dimethylaminobenzaldehyde (Hi Media GRM809) ve Konsantre HCL(H1758)), MR Ayıracı kullanıldı.

3.1.4. Antibiyotik Diskleri

Sefpodoksim (CPD; 10 µg) (HiMedia, SD725), sefotaksim (CTX; 30 µg) (HiMedia, SD040), seftriakson (CTR; 30 µg) (HiMedia, SD065), seftazidim (CAZ; 30 µg) (HiMedia, SD062), aztreonam (ATM; 30 µg) (HiMedia, SD212), sefoksitin (CFX; 30 µg) (HiMedia, SD041),

sefepim (CPM; 30 µg) (HiMedia, SD219), seftazidim-klavulanik asit (CAZ/CLA; 30/10 µg) (HiMedia, SD207), sefotaksim-klavulanik asit (CTX/CLA; 30/10 µg) (HiMedia, SD724), meropenem(MER 10 µg) (HiMedia, SD727).

3.1.4.1. Antibiyotik Duyarlılık Testi Kontrol Suşları

Fenotipik GSBL belirlenmesi için uygulanan tarama ve doğrulama testlerinde pozitif kontrol olarak *E.coli* ATCC 35218 (MicroSwab, MS-E027), negatif kontrol olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı.

3.1.5. Moleküler Çalışmalar

3.1.5.1. DNA ekstraksiyonu

Mueller Hinton Agar besiyerinde üretilen *E.coli* izolatlarından DNA'nın eldesi amacıyla DNAaz/RNAaz ari distile su (Invitrogen™ 10977035) kullanıldı.

3.1.5.2. DNA amplifikasyonu

Primerler: Forvard ve revers primerlerin dizaynı Elips Sağlık Ürünleri İthalat ve İhracat Ltd. Şti.'nde yapıldı. Çalışmada varlığı araştırılan genleri sınırlayan reverse ve forward primer çiftlerine ait gen dizilimleri, amplikon büyüklükleri ve kaynakları Tablo 3.6'da gösterildi.

Amplifikasyon için PCR Master Miks Thermo Scientific, K0171 X2 master mixi negatif kontrol olarak da DNaz/RNaz'dan ari distile su (Invitrogen™ 10977035) kullanıldı.

Tablo 3.6: Reverse ve Foward Primer çiftlerine ait gen dizilimleri, amplikon büyüklükleri ve kaynakları

Hedef (ler)		**Gen Dizilimi (5'-3')**	**Amplikon Büyüklüğü**	**Kaynak**
CTX-M		F-SCSATGTGCAGYACCAGTAA R-CCGCRATATGRTTGGTGGTG	550 bp	Saladin ve ark. 2002
CTX-M Grup 1		F-AAAAATCACTGCGCCAGTTC R-AGCTTATTCATCGCCACGTT	415 bp	Woodford ve ark. 2006
CTX-M Grup 2		F-CGACGCTACCCCTGCTATT R-CCAGCGTCAGATTTTTCAGG	552 bp	
CTX-M Grup 9		F-CAAAGAGAGTGCAACGGATG RATTGGAAAGCGTTCATCACC	205 bp	
CTX-M Grup 8		F-TCGCGTTAAGCGGATGATGC R-AACCCACGATGTGGGTAGC	666 bp	
CTX-M Grup 25		F-GCACGATGACATTCGGG R-AACCCACGATGTGGGTAGC	327 bp	
CTX-M-15		F-GCG GTAAATCGT GGAGTGAT R-ATT CGGCAAGTTTTTGCTGT	400bp	Manyahi ve ark. 2017
TEM		F-ATGAGTATTCAACATTTCCG R-CCAATGCTTAATCAGTGAGC	858 bp	Arlet ve ark. 1995
SHV		F-CTTTACTCGCTTTATCG R-TCCCGCAGATAAATCACCA	827 bp	Chanawong ve ark. 2000
MOX Grubu	MOX-1, MOX-2, CMY-1, CMY-8-9-10-11	F-GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT R-CACATTGACATAGGTGTGGTGC	520 bp	Pérez-Pérez ve Hanson, 2002
CIT Grubu	LAT-1-2-3-4, CMY-2-3-4-5-6-7, BIL-1	F-TGGCCAGAACTGACAGGCAAA R-TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	462 bp	
DHA Grubu	DHA-1, DHA-2	F-AACTTTCACAGGTGTGCTGGGT R-CCGTACGCATACTGGCTTTGC	405 bp	
ACC Grubu	ACC	F-AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA R-TTCGCCGCAATCATCCCTAGC	346 bp	
EBR Grubu	MIR-1T, ACT-1	F-TCGGTAAAGCCGATGTTGCGC R-CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT	302 bp	
FOX Grubu	FOX-1-2-3-4-5b	F-AACATGGGGTATCAGGGAGATG R-CAAAGCGCGTAACCGGATTGG	190 bp	
OXA-10		F-GTCTTTCGAGTACGGCATTA R-ATTTTCTTAGCGGCAACTTAC	720 bp	Vahaboglu ve ark. 1998
PER-2		F-CGCTTCTGCTCTGCTGAT R-GGCAGCTTCTTTAACGCC	469 bp	Bauernfeind ve ark. 1996
KPC		F-GCTCCGATAATGAAAGCGT R-ACGACGGCATAGTCATTTGC	583bp	Dallenne ve ark. 2010
VIM		F-GATGGTGTTTGGTCGCATA R-CGAATGCGCAGCACCAG	390bp	Dallenne ve ark. 2010
NDM-1		F-CCCGGCCACACCAGTGACA R-GTAGTGCTCAGTGTCGGCAT	129bp	Dallenne ve ark. 2010
OXA-48		F-GCTTGATCGCCCTCGATT R-GATTTGCTCCGTGGCCGAAA	281bp	Voets ve ark. 2011

3.1.5.3. ß -laktamaz üreten pozitif kontrol suşları

Çalışmada araştırılan GSBL ve AmpC gen grupları için pozitif kontroller (*E. coli* NCTC 13461, 13462, 13463, 13464, 13465, *E. coli* ATCC35218 ve *K. pnemoniae* ATCC 700603) Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edildi. Karbapenem direncinin belirlenmesi için pozitif kontrol olarak, İstanbul Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından sağlanan Karbapenem dirençli izolatlar kullanıldı.

3.1.5.4. DNA Elektroforezi ve Jel Görüntüleme

TAE Buffer 50X (Thermo Scientific B49): Çalışmada DNaz RNaz ari su ile seyreltilerek 1X yoğunluğunda kullanıldı.

Agaroz jel: %2 yoğunluğunda hazırlanarak kullanıldı (Dallenne ve ark. 2010). Agaroz (Sigma, A9539) 2 g agaroz 1X TAE ile 100 ml'ye tamamlandı ve ısıtılarak homojenize edildi. Soğuduktan sonra %0,1 oranında etidyum bromür (Sigma, E1385) eklendi. Tarakları uygun yerleştirilmiş jel kalıp tepsisinin üzerine döküldü. Oda sıcaklığında bekletilerek jelin katılaşması sağlandı ve taraklar çıkarıldı. Jel kalıbı elektroforez tankına yerleştirildi. Yükleme Solüsyonu olarak 6X DNA yükleme boyası (Thermo Scientific, R0611), DNA marker olarak da 100-1 000 bp (Thermo Scientific, SM0241) 100 bp aralıklı DNA ledder kullanıldı.

3.1.6. Diğer Gereçler

Thermal cycler (Axygen Maxygen)
Thermal cycler (HiMedia wee32)
1,5 ml kapaklı mikrosantrifüj tüpleri (ISOLAB)
Mikrosantrifüj (Denville 260D)
0,2 ml'lik ince çeperli DNaz/RNaz dan arındırılmış mikrosantrifüj tüpleri (Axygen)
Pipetler (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl otomatik pipetler) (Thermo Scientific)
DNaz/RNaz dan arındırılmış filtreli pipet uçları (ISOLAB)
Vorteks (Biosan)
Agaroz jel elektroforez sistemi (Agagel Mini-Wide)
Güç kaynağı (Biometra-Power pack P25)
UV Transilluminator (ınfinity, Vilber Laurmat)
Etüv, Buzdolabı, Derin Dondurucu, Isıtıcı blok

3.2. YÖNTEM

3.2.1. *E.coli* İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Dışkı örnekleri zenginleştirme için Triptic Soy Broth içerisinde ekildi, 37°C'de 24 saat aerobik koşullarda inkübe edildi (Murk ve ark. 2009; Overdevest ve ark. 2011).

İnkübasyon süresinin sonunda sıvı kültürden alınan 1 ml, içerisine 1g/L sefotaxime katkılı ve katkısız MacConkey agarlara ekildi, 37°C'de 24 saat-aerob koşullarda inkübasyona bırakıldı. Koloniler, morfolojileri, üreme özellikleri, laktoz fermentasyonu yönünden kontrol edildi ve şüpheli kolonilerden Gram boyamalı preparatlar hazırlandı ve incelendi. Uygun makroskobik ve mikroskobik morfolojiye sahip kolonilerden saf kültür elde etmek amacıyla MacConkey agarlara pasajlar yapıldı. Elde edilen şüpheli saf kültürlere katalaz ve oksidaz testleri uygulandı (EFSA, 2011).

İdentifikasyon için elde edilen saf kültürlere konvansiyonel biyokimyasal testler (Gram boyama, katalaz ve oksidaz, indol, metil red, voges-proskauer, sitrat, üre, triple sugar iron agar'da H_2S oluşumu, karbonhidrat fermantasyon testleri) uygulandı (Quinn ve ark. 2004).

GSBL ve AmpC beta laktamaz varlığını araştırmak için sefotaksim katkılı MacConkey agardan identifiye edilen *E.coli* izolatları, karbapenemaz enzimleri varlığını araştırmak için sefotaksim katkısız MacConkey agardan identifiye edilen *E.coli* izolatları kullanıldı.

Elde edilen *E.coli* izolatları TSB'ye ekilerek 37°C'de aerob koşullarda 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkubasyon süresi sonunda %25 olacak şekilde % 50 gliserol ile birlikte cryotüplere aktarılarak -20°C'de çalışılana kadar saklandı.

3.2.2. Fenotipik GSBL Varlığının Saptanması

GSBL varlığının belirlenmesi için tarama ve doğrulama testleri yapıldı. Tarama testi yapılırken, izolatların sefpodoksim, seftazidim, aztreonam, sefotaksim ve seftriakson antibiyotiklerine duyarlılıkları belirlendi (CLSI 2021).

3.2.2.1. GSBL Tarama Testi

Elde edilen izolatların, 24 saatlik taze saf kültürlerinden fizyolojik tuzlu su içerisinde 0,5 McFarland yoğunluğunda olacak şekilde süspansiyonlar hazırlandı. Elde edilen süspansiyonlardan sıvab yardımı ile MHA üzerine yayıldı. GSBL tarama testleri için gerekli olan sefpodoksim, seftazidim, aztreonam, sefotaksim ve seftriakson antibiyotiklerine ait diskler

petri üzerine yerleştirildi ve 37°C'de 24 sa. inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonucunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçlerek CLSI standartlarına göre değerlendirildi. Kullanılan antibiyotik disklerinin en az ikisinde, CLSI tarafından belirlenen inhibisyon zonlarına uygun sonuç veren izolatlar GSBL şüpheli olarak değerlendirildi (Tablo 3-7). Şüpheli izolatlara GSBL doğrulama testi uygulandı (CLSI 2021).

Tablo 3.7: Disk difüzyon yöntemi ile GSBL tarama testi için kullanılan Antibiyotikler ve inhibisyon zon sınır değerleri (CLSI 2021)

Antibiyotik Adı	Disk içeriği	İnhibisyon zonu (mm)	*E.coli* ATCC 25922
Sefotaksim (CTX)	30 µg	≤27	29-35
Seftriakson (CTR)	30 µg	≤25	29-35
Seftazidim (CAZ)	30 µg	≤22	25-32
Sefpodoksim (CPD)	10 µg	≤17	23-28
Aztreonam (ATM)	30 µg	≤27	28-36

3.2.2.2. GSBL Doğrulama Testi (Kombine Disk Diffüzyon Yöntemi)

GSBL tarama testinde belirlenen şüpheli izolatların doğrulaması için; sefotaksim (CTX; 30 µg) ve sefotaksim-klavulanik asit (CTX/CLA; 30/10 µg) ile seftazidim (CAZ; 30 µg) ve seftazidim-klavulanik asit (CAZ/CLA; 30/10 µg) diskleri kullanılarak disk diffüzyon testi uygulandı.

GSBL şüpheli *E. coli* izolatlarına uygulanan disk diffüzyon testinde, kombinasyonsuz antibiyotik diskleri ve klavulanik asit kombinasyonlu antibiyotik diskleri etrafında şekillenen inhibisyon zonları arasında ≥5 mm ve üzerinde fark görülmesi sonucunda izolat GSBL pozitif olarak değerlendirildi (CLSI 2021).

3.2.2.3. Ampc Beta Laktamaz Varlığının Saptanması

AmpC tanımlama testinde sefotaksim katkılı MacConkey agardan identifiye edilen *E.coli* izolatlarına sefoksitin ve sefepimin etkileri araştırıldı. Sefoksitine dirençli (≤14 mm) ve sefepime duyarlı (≥18 mm) izolatlar fenotipik AmpC pozitif olarak değerlendirildi (EFSA, 2011).

3.2.2.4. Karbapenemaz Enzimleri Varlığının Belirlenmesi (Modifiye Hodge Testi)

Sefotaksim katkısız MacConkey agardan izole edilen izolatlara, karbapenemaz üreten suşların, testte kulanılan karbapenemi inhibe etmesi sonucunda indikatör suş olarak kullanılan duyarlı *E.coli* suşunun inhibisyon zonundaki değişikliği yorumlamayı esas alan bir test olan

Modifiye Hodge Testi (MHT) uygulandı(CLSI 2021). Bu amaçla; karbapenem antibiyotiklere karşı duyarlı olan *E.coli* ATCC25922 suşundan 0,5 MacFarland yoğunluğunda bir süspansiyon hazırlandı. Hazırlanmış olan bu süspansiyon 1:10 oranında sulandırılarak Mueller Hinton Agar yüzeyine rutin disk difüzyon tekniği ile yayılarak inokule edildi. inokulumun petri yüzeyinde 3-10 dakika kadar kuruması bekledikten sonra meropenem (10µg) diskleri agar yüzeyinde 4 adet olacak şekilde eşit aralıklarla yerleştirildi. Her bir diskin etrafına birbirlerine dik şekilde çizgi ekim yapılarak karbapenem direnci araştırılan şüpheli izolatlar ve pozitif kontrol izolatı inokule edildi, 37°C'de 24 sa. aerob koşullarda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda yayma ekim olarak pasajlanan ATCC 25922 *E. coli* suşunun meropenem diskleri etrafında inhibisyon zonu oluşturması, şüpheli izolatlardan karbapenem direncine sahip olan bir suş varsa zon içerisinde diske temas eden bir üreme hattı görülmesi beklendi. Meropenem diskine üreme ile temas etmeyen örnekler duyarlı (karbapenemaz negatif), üreme ile dokunan suşlar ise dirençli olarak değerlendirildi (karbapenemaz pozitif) (CLSI 2021).

3.2.3. Moleküler Çalışmalar (PCR)

Sefotaksim katkılı MacConkey agarlarda izole edilen *E. coli* suşlarında fenotipik sonuçlara bakılmaksızın PCR ile GSBL ve AmpC Beta Laktamaz direnç genlerinin varlığı araştırıldı. İzolatlarda TEM (Arlet ve ark. 1995), SHV (Chanawong ve ark. 2000), OXA-10 (Vahaboglu ve ark. 1998), PER-2 (Bauernfeind ve ark. 1996), CTX-M (Saladin ve ark. 2002, Woodford ve ark. 2006), AmpC (Perez ve ark. 2002), KPC, VIM, OXA (Dallenne ve ark. 2010) ve NDM-1 (Voets ve ark. 2011) gen gruplarının varlığı araştırıldı. Ayrıca sefotaksim katkısız MacConkey agarlarda izole edilen *E. coli* suşlarının fenotipik sonuçları dikkate alınmadan karbapenemaz direnç genlerinin varlığı da PCR ile araştırıldı.

3.2.3.1. GSBL ve AmpC Beta Laktamaz direnç genlerinin saptanması

DNA Esktraksiyonu

Dışkı örneklerinden Sefotaksim katkılı MacConkey agarlarda izole edilen E.coli izolatlarından DNA ekstraksiyonu için kaynatma yöntemi kullanıldı. Bu amaçla 24 saatlik taze kültürler hazırlandı ve her kültürden 1 öze dolusu koloni alınarak 100 µl DNAaz/RNAaz ari ultra saf su içinde süspanse edildi. Süspansiyonlar ağzı kapaklı bir mikrosantrifuj tüpüne aktarıldı ve 95 °C'de 10 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda 6000 rpm de 4 dakika santrifüj edildi. Süpernatant toplanarak PCR' de kalıp DNA olarak kullanıldı (Dallenne ve ark. 2010).

3.2.3.2. bla$_{CTX-M}$ Geninin Amplifikasyonu

bla$_{CTX-M}$ geninin amplifikasyonu için PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde hazırlandı. Karışım, hacim içerisinde 25 µl master mix, 22 µl DNaz/RNaz free distile su, 1 µl'de 20 pmol primer olacak şekilde Forward ve Reverse primerler, 1 µl kalıp DNA olarak hazırlandı. (Saladin ve ark. 2002).

bla$_{CTX-M}$ geninin saptanması için gerekli amplifikasyon döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 94°C'de 3 dakika, 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 57°C'de 30 saniye primerlerin bağlanması (ilk bağlanma), 72°C'de 45 saniye sentezleme (ilk sentez) şeklinde düzenlendi. Bu döngü toplam 35 döngü ve son sentez aşaması 72°C'de 5 dk olacak şekilde programlandı. (Saladin ve ark. 2002) (Tablo 3-8).

3.2.3.3. bla$_{CTX-M\ Grup\ 1}$ Genlerinin Amplifikasyonu

bla$_{CTX-M\ Grup\ 1}$ için reaksiyon karışımı 50 µl olarak belirlendi. Karışımın içerisinde 25 µl PCR master mix, 22 µl DNaz/RNaz free distile su, 10 pmol primer olacak şekilde 1 µl Forward ve reverse primerler ile 1 µl kalıp DNA, olacak şekilde hazırlandı.

Amplifikasyon döngüsü için ise her grup için aynı olacak şekilde; 94°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 25 saniye denatürasyon, 52°C'de 40 saniye primerlerin bağlanması, 72°C'de 50 saniye sentezleme olarak düzenlendi. Bu döngü 30 kez tekrar ettirildi ve son sentez olarak 72°C'de 6 dakika olacak şekilde program hazırlandı.

3.2.3.4. bla$_{CTX-M\ Grup\ 2}$ Genlerinin Amplifikasyonu

bla$_{CTX-M\ Grup\ 2}$ reaksiyon karışımı 50 µl olarak belirlendi. Karışımın içerisinde 25 µl PCR master mix, 22 µl DNaz/RNaz free distile su, Grup 2 için 20 pmol olacak şekilde 1 µl forward ve reverse primerler ve 1 µl kalıp DNA olacak şekilde hazırlandı.

Amplifikasyon döngüsü için ise her grup için aynı olacak şekilde; 94°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 25 saniye denatürasyon, 52°C'de 40 saniye primerlerin bağlanması, 72°C'de 50 saniye sentezleme olarak düzenlendi. Bu döngü 30 kez tekrar ettirildi ve son sentez olarak 72°C'de 6 dakika olacak şekilde program hazırlandı.

3.2.3.5. bla$_{CTX-M\ Grup\ 9}$ Genlerinin Amplifikasyonu

bla$_{\text{CTX-M Grup 9}}$ için 50 µl olarak belirlendi. Karışımın içerisinde 25 µl PCR master mix, 22 µl DNaz /RNaz free distile su, Grup 9 için 20 pmol olacak şekilde 1 µl forward ve reverse primerlerle, 1 µl kalıp DNA olacak şekilde hazırlandı.

Amplifikasyon döngüsü için ise her grup için aynı olacak şekilde; 94°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 25 saniye denatürasyon, 52°C'de 40 saniye primerlerin bağlanması, 72°C'de 50 saniye sentezleme olarak düzenlendi. Bu döngü 30 kez tekrar ettirildi ve son sentez olarak 72°C'de 6 dakika olacak şekilde program hazırlandı.

3.2.3.6. Multipleks PCR ile bla$_{CTX-M\ Grup\ 8-25}$ Enzim Genlerinin Amplifikasyonu

bla$_{\text{CTX Grup 8-25}}$ ise tek bir multiplex PCR reaksiyonu olarak hazırlandı. Toplam karışım hacmi 50 µl olarak belirlendi. Karışımın içerisinde 34 µl PCR master mix, 8 µl DNaz/RNaz free distile su, Grup 8 için 30 pmol primer olacak şekilde 1 µl Forward ve reverse primerler, Grup 25 için 30 pmol olacak şekilde 1 µl forward ve reverse primerler ve 4 µl kalıp DNA olacak şekilde hazırlandı.

Amplifikasyon döngüsü için ise; 94°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 25 saniye denatürasyon, 52°C'de 40 saniye primerlerin bağlanması, 72°C'de 50 saniye sentezleme olarak düzenlendi. Bu döngü 30 kez tekrar ettirildi ve son sentez olarak 72°C'de 6 dakika olacak şekilde program hazırlandı (Woodford ve ark. 2006).

3.2.3.7. bla$_{CTX-M-15}$ Geninin Amplifikasyonu

bla$_{\text{CTX-M-15}}$ için 50 µl olarak belirlendi. Karışımın içerisinde 25 µl PCR master mix, 22 µl DNaz /RNaz free distile su, *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$ için 20 pmol olacak şekilde 1 µl forward ve reverse primerlerle, 1 µl kalıp DNA olacak şekilde hazırlandı.

Amplifikasyon döngüsü için ise her grup için aynı olacak şekilde; 94°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 25 saniye denatürasyon, 52°C'de 40 saniye primerlerin bağlanması, 72°C'de 50 saniye sentezleme olarak düzenlendi. Bu döngü 30 kez tekrar ettirildi ve son sentez olarak 72°C'de 6 dakika olacak şekilde program hazırlandı.

3.2.3.8. bla$_{TEM}$ Grubu Enzim Genlerinin Saptanması

Termal Döngü programı için kullanılan PCR karışımı için toplam hacmin 50 µl olması belirlendi. Bu hacim içerisinde 25 µl master mix, 22 µl DNaz /RNaz free distile su, 1 µl'de 10 pmol primer olacak şekilde forward ve reverse primerler, 1 µl kalıp DNA ile hazırlandı (Arlet ve ark. 2010).

bla$_{TEM}$ grubu genlerin saptanması için gerekli amplifikasyon döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 94°C'de 3 dakika, 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 55°C'de 30 saniye primerlerin bağlanması, 72°C'de 45 saniye sentezleme şeklinde düzenlendi. Bu döngünün 35 kez tekrarı ve son sentez olarak 72°C'de 5 dakika olacak şekilde programı hazırlandı(Arlet ve ark. 2010).

3.2.3.9. bla$_{SHV}$ Grubu Genlerinin Saptanması

bla$_{SHV}$ grubu genlerin belirlenmesinde kullanılan PCR reaksiyonu için toplam hacmin 50 µl olacak şekilde, 25 µl master mix, 22 µl DNaz /RNaz free distile su, 1 µl'de 30 pmol primer olacak şekilde forward ve reverse primerler, son olarak da 1 µl kalıp DNA bulunmaktadır (Chanawong ve ark. 2000).

bla$_{SHV}$ grubu genlerin saptanması için gerekli amplifikasyon döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 95°C'de 5 dakika, 95°C'de 15 saniye denatürasyon, 55°C'de 30 saniye primerlerin bağlanması, 72°C'de 90 saniye sentezleme şeklinde düzenlendi. Termal döngü cihazının 30 döngü yapması ve son sentez olarak 72°C'de 5 dakika olacak şekilde programı hazırlandı.

3.2.3.10. bla$_{OXA-10}$ Geninin Saptanması

Ayarlanan Amplifikasyon programında kullanılacak karışım, toplam hacim 50 µl olarak belirlendi. Karışımın formülasyonu, 20,5 µl master miks, 24,5 µl DNaz/RNaz free distile su, 50 pmol forward ve revers primerlerden 1,5 µl ve 2 µl kalıp DNA olarak hazırlandı (Vahapoğlu ve ark. 1999).

bla$_{OXA-10}$ geninin saptanması amacıyla ısı döngü cihazı 94°C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonuna ayarlandı. 94°C'de 1 dakika denatürasyon, 55°C'de 1 dakika primer bağlanması ve 72°C'de 1 dakika sentez döngüsü, 35 kez tekrar edilecek şekilde ayarlandı. Son sentez olarak da 72°C'de 10 dakika olacak şekilde program düzenlendi (Vahaboğlu ve ark. 1998).

3.2.3.11. bla$_{PER-2}$ Geninin Saptanması

bla$_{PER\ 2}$ geni için hazırlanan PCR miksi için toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 25 µl master miks, 22 µl DNaz-/RNaz Free distile su, 25 pmol forward ve 25 pmol reverse primerlerden 1'er µl ve 1 µl kalıp DNA kullanılarak hazırlandı (Bauernfeind ve ark. 1996).

Amplifikasyon için ısı döngü cihazı; 95°C'de 180 saniye başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 60°C'de 30 saniye primer bağlanması, 72°C'de 30 saniye sentez döngüsünden toplam 25 döngü ve son sentez aşaması 72°C'de 180 saniye olacak şekilde düzenlendi (Bauernfeind ve ark. 1996).

Tablo 3.8: GSBL Genlerinin PCR Karışımları ve PCR Döngüleri

Gen	Karışım	Döngü	
bla$_{CTX-M}$	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Forward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 3 dk	
		95 °C – 30 sn 57°C – 30 sn 72°C – 45 sn	35 Tur
		72°C – 5 dk	
bla$_{CTX-M}$ Grup 1	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Forward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 5 dk	
		94 °C – 25 sn 52°C – 40 sn 72°C – 50 sn	30 Tur
		72°C – 6 dk	
bla$_{CTX-M}$ Grup 2	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Forward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 5 dk	
		94 °C – 25 sn 52°C – 40 sn 72°C – 50 sn	30 Tur
		72°C – 6 dk	
bla$_{CTX-M}$ Grup 9	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Forward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 5 dk	
		94 °C – 25 sn 52°C – 40 sn 72°C – 50 sn	30 Tur
		72°C – 6 dk	

Tablo 3.8: (Devam): GSBL Genlerinin PCR Karışımları ve PCR Döngüleri

bla$_{\text{CTX-M-15}}$	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Forward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 5 dk	
		94 °C – 25 sn 52°C – 40 sn 72°C – 50 sn	30 Tur
		72°C – 6 dk	
bla$_{\text{CTX-M Grup 8}}$ *bla*$_{\text{CTX-M Grup 25}}$	34 µl master mix 8 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Forward 1 µl Reward 4 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 5 dk	
		94 °C – 25 sn 52°C – 40 sn 72°C – 50 sn	30 Tur
		72°C – 6 dk	
bla$_{\text{TEM}}$	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Forward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 3 dk	
		95 °C – 30 sn 55°C – 30 sn 72°C – 45 sn	35 Tur
		72°C – 5 dk	
bla$_{\text{SVH}}$	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Foward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	95 °C – 5 dk	
		95 °C – 15 sn 55°C – 30 sn 72°C – 90 sn	30 Tur
		72°C – 5 dk	
bla$_{\text{OXA-10}}$	20,5 µl master mix 24,5 µl DNaz Free Distile Su 1,5 µl Foward 1,5 µl Reward 2 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 10 dk	
		94 °C – 60 sn 55°C – 60 sn 72°C – 60 sn	35 Tur
		72°C – 10 dk	
bla$_{\text{PER}}$	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Foward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	95 °C – 3 dk	
		94 °C – 30 sn 60°C – 30 sn 72°C – 30 sn	25 Tur
		72°C – 3 dk	

CTX-M Grup 1: -1, -3, -10, -12, -15, -22, -23, -28, -29, -32, -33, -42, -52, -53, -54, -55, -58, FEC-1

CTX-M Grup 2: -2, -4, -5, -6, -7, -20, -35, -43, Toho-1

CTX-M Grup 8: -8

CTX-M Grup 9: -9, -13, -14, -16, -17, -19, -21, -24, -27, Toho-2

CTX-M Grup 25: -25, -26, -41*

**Gen gruplarının içerdiği genler*

3.2.3.12. Multipleks PCR ile AmpC Grubu Genlerin Saptanması

AmpC grubu genlerin amplifikasyon için kullanılan PCR karışımının toplam hacmi 50 µl olarak belirlendi. 18 µl master miks, 18 µl DNaz/RNaz Free distile su, AmpC Grubuna ait forward ve reverse pirimerlerin bulunduğu 10 µl hacmindeki primer havuzu ve 4 µl kalıp DNA ile hazırlandı. Primer havuzu içerisine her gruptan 10 pmol olacak şekilde *bla*$_{MOX}$, *bla*$_{CIT}$, *bla*$_{DHA}$ ve *bla*$_{ACC}$ grubunun her birinden 0,6 şar µl forward ve reverse, EBC grubundan 0,5 µl forward ve reverse, FOX grubundan 0,4 µl olacak şekilde karıştırılarak elde edildi (Pérez-Pérez ve Hanson, 2002).

Bu amaçla amplifikasyon ısı döngüsü 94°C'de 3 dakika başlangıç denatürasyonu ile başlatıldı. 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 64°C'de 30 saniye primer bağlanması ve 72°'de sentez döngüsü ile 25 döngü olacak şekilde reaksiyon devam ettirildi. 72°C'de 7 dakikalık son sentez işlemi ile amplifikasyon reaksiyonu sonlandırıldı (Tablo 3.9) (Pérez-Pérez ve Hanson, 2002).

Tablo 3.9: AmpC Grubu Genlerin Amplifikasyonu

<table>
<tr><th>Gen</th><th>Karışım</th><th colspan="2">Döngü</th></tr>
<tr><td rowspan="2">bla_{MOX}</td><td rowspan="7">18 µl master mix
18 µl DNaz Free Distile Su
10 µl Forward
ve Reward havuzu
4 µl Kalıp DNA
50 µl Toplam</td><td colspan="2">94 °C – 3 dk</td></tr>
<tr><td rowspan="5">94 °C – 30 sn
64°C – 30 sn
72°C – 60 sn</td><td rowspan="5">25
Tur</td></tr>
<tr><td>bla_{CIT}</td></tr>
<tr><td>bla_{DHA}</td></tr>
<tr><td>bla_{ACC}</td></tr>
<tr><td>bla_{EBC}</td></tr>
<tr><td>bla_{FOX}</td><td colspan="2">72°C – 7 dk</td></tr>
</table>

3.2.3.13. Karbapenemaz Direnç Genlerinin (bla_{KPC}, bla_{VIM}, bla_{OXA48}, bla_{NDM1}) Saptanması

Karbapenemaz Grubu Genlerin Saptanması amacıyla sefotaksimsiz MacConkey agarda üreyen *E.coli* izolatlarının tamamına PCR testi uygulandı

3.2.3.14. KPC ve VIM grubu Genlerin Saptanması

Reaksiyonun gerçekleşmesi için hazırlanan PCR karışımı, 50 µl toplam hacim olacak şekilde, 25 µl master miks, 19 µl DNaz /RNaz Free distile su, KPCve VIM Grubuna ait forward

ve reverse pirimerlerin bulunduğu 4 µl hacmindeki primer havuzu ve 2 µl kalıp DNA ile hazırlandı (Dallenne ve ark. 2010).

bla$_{KPC}$ ve *bla*$_{VIM}$ grubu genler multipleks PCR reaksiyonu olacak şekilde tasarlandı. Bunun için ısıl döngü cihazı 94°C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonu, 30 döngü içerisinde 94°C'de 40 saniye denatürasyon, 60°C'de 40 saniye primer bağlanması, 72°C'de 60 saniye sentez yapıldı. Son sentez olarak da 72°C'de 7 dakika olacak şekilde hazırlandı

3.2.3.15. bla$_{OXA\ 48}$ *Genlerinin saptanması*

Reaksiyonun gerçekleşmesi için hazırlanan PCR karışımı, 50 µl toplam hacim olacak şekilde, 25 µl master miks, 21µl DNaz /RNaz Free distile su, OXA 48 Grubuna ait 1 µl'er forward ve reverse pirimerler ve 2 µl kalıp DNA ile hazırlandı (Dallenne ve ark. 2010).

bla$_{OXA48}$ geninin saptanması için ısıl döngü cihazı 94°C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonu, 30 döngü içerisinde 94°C'de 40 saniye denatürasyon, 57°C'de 40 saniye primer bağlanması, 72°C'de 60 saniye sentez yapıldı. Son sentez olarak da 72°C'de 7dakika olacak şekilde hazırlandı (Dallenne ve ark. 2010).

3.2.3.16. bla$_{NDM\text{-}1}$ *Grubu Karbapenemler*

Reaksiyonun gerçekleşmesi için hazırlanan PCR karışımı, 50 µl toplam hacim olacak şekilde, 25 µl master miks, 21µl DNaz /RNaz Free distile su, NDM-1 genine ait 1 µl'er forward ve reverse pirimerler ve 2 µl kalıp DNA ile hazırlandı (Voet ve ark. 2011).

bla$_{NDM\text{-}1}$ grubu genler PCR reaksiyonu olacak şekilde tasarlandı. Bunun için ısıl döngü cihazı 94°C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonu, 30 döngü içerisinde 94°C'de 40 saniye denatürasyon, 60°C'de 40 saniye primer bağlanması, 72°C'de 60 saniye sentez yapıldı. Son sentez olarak da 72°C'de 7 dakika olacak şekilde hazırlandı (Armin ve ark. 2018).

Tablo 3.10: Karbapenem direnç genlerinin karışım ve döngüleri

Gen	Karışım	Döngü	
bla$_{KPC}$	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Foward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 10 dk	
		94 °C – 40 sn 60°C – 40 sn 72°C – 60 sn	30 Tur
bla$_{VIM}$		72°C – 7 dk	
bla$_{OXA-48}$	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Foward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 10 dk	
		94 °C – 40 sn 57°C – 40 sn 72°C – 60 sn	30 Tur
		72°C'de 7 dk	
bla$_{NDM-1}$	25 µl master mix 22 µl DNaz Free Distile Su 1 µl Foward 1 µl Reward 1 µl Kalıp DNA 50 µl Toplam	94 °C – 10 dk	
		94 °C – 40 sn 57°C – 40 sn 72°C – 60 sn	30 Tur
		72°C – 7 dk	

3.2.4. Amplifiye Edilen Ürünlerin Görüntülenmesi

Elde edilen amplifiye ürünler Agaroz jel elektroforez yöntemi ile görüntülendi. %1 yoğulukta TAE ile hazırlanan, 10 µg/ml etidyum bromür boyar madde ilave edilen jelin ilk kuyucuğunaa 6 µl (5 µl DNA marker ve 1 µl yükleme solüsyonu) marker karışımı (Geneon DNA Ladder CAT 304-005) yüklendi. Sıralı iki kuyucuğa pozitif ve negatif kontrol amplifikonlar yerleştirildi ve kalan kuyucuklara izolatlara ait amplifiye ürünler boş kuyucuklara sıralı olarak yerleştirildi. Elektroforez işlemi, 1XTAE tampon içerisinde 90 Volt'da 45 dakika sürdürüldü. İşlem sonunda jel tanktan alınarak UV ışık altında gözlendi. Oluşan bantlar bilgisayar aracılığı ile kaydedildi. Pozitif kontrolde bant, negatif kontrolde bant oluşmaması yapılan çalışmanın doğruluğunu gösterdi. İzolatlara ait spesifik DNA pozitifliği, belirlenen molekül ağırlında DNA bandının varlığına göre yapıldı (Tablo 3.6).

3.2.5. İstatistiksel Analiz

Örnek grubu/grupları ve antibiyotik direnci ile ilgili prevalans oranı/oranları (PR) yüzde olarak hesaplandı. Bütün analizlerde güven aralığı (CI) %95 olarak kullanıldı. Prevalans (P) antimikrobiyal dirence sahip *E. coli* izolatlarının ve/veya yabani kuş örnek sayısının toplam *E. coli* izolatları ve/veya yabani kuş örnek sayısına bölünmesi ile hesaplandı (prevalans= pozitif örnek sayısı/ incelenen toplam hayvan (izolat) sayısı* 100). Verilerin analizinde SPSS for

Windows, Version 13.0. (SPSS Inc. Chicago, USA, Released 2008) programı kullanıldı. Rektal kolonizasyon ile etken varlığı- pozitiflik oranı ve antibiyotik direnç saptanma varlığı arasındaki ilişki araştırıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında chi-kare testi ve beklenen hücre değeri 5'in altında olduğu durumlarda Fisher's exact testi kullanılldı. Gerçekleştirilen bütün analizlerde istatistiksel olarak P değeri <0.05 önemli kabul edildi. Bu çalışmada gerçekleştirilen analizler;

1. Toplam antibiyotik direnç prevalansı saptandı
2. Toplam prevalansın istatistiksel anlamlılığı değerlendirildi
3. Grupların prevalansı saptandı
4. Grupların prevalans değerleri arasında ikili karşılaştırmalar yapılarak istatistiksel anlamlılıkları araştırıldı.

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları

Sefotaksim katkılı ve katkısız MacConkey agarlarda üreyen kolonilere yapılan izolasyon ve identifikasyon testleri sonucunda 272 örnekten toplam sefotaksim katkısız MacConkey agarda 212 adet, sefotaksim katkılı MacConkey agarda 84 adet *E. coli* izole ve identifiye edildi. İdentifiye edilen *E. coli* izolatlarının gruplara göre dağılımı;

1. grupta sefotaksim katkılı MacConkey agarda 48, katkısız MacConkey Agar'da 65 *E. coli* izolatı elde edildi.

2. grupta sefotaksim katkılı MacConkey agarda 20, katkısız MacConkey Agar'da 62 adet *E. coli* izolatı saptandı.

3. grupta 10 *E. coli* izolatı sefotaksim katkılı MacConkey agardan identifiye edildi. Katkısız MacConkey agar'dan 44 *E. coli* izolatı saptandı.

4. grupta sefotaksim katkılı MacConkey agarda 6, katkısız MacConkey Agar'dan 41 *E. coli* izolatı identifiye edildi.

E. coli izolatlarının dağılımı Tablo 4.1'de özetlendi.

Tablo 4.1: Örnek alınan gruplara göre izole ve identifiye edilen *E. coli*'lerin dağılımı

Gruplar	*E. coli* izolat sayısı	
	Sefotaksim katkılı MacConkey agarda	Sefotaksim katkısız MacConkey agarda
1. Grup	48	65
2. Grup	20	62
3. Grup	10	44
4. Grup	6	41
Toplam	84	212

4.2. Fenotipik GSBL Tarama Testi Sonuçları

Üreme inhibisyon zon çaplarına göre GSBL şüpheli 84 *E.coli* izolatının 57'si tarama testi sonucunda pozitif bulundu. Bu sonucun gruplara dağılımı; Grup 1'de 48 izolatın 34' ünde, grup 2'de 20 izolatın 13'ünde, grup 3'te 10 izolatın 8'inde ve grup 4'te izole edilen 6 izolatın 2'sinde GSBL tarama testi pozitif olarak saptandı (Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5, Şekil 4.1).

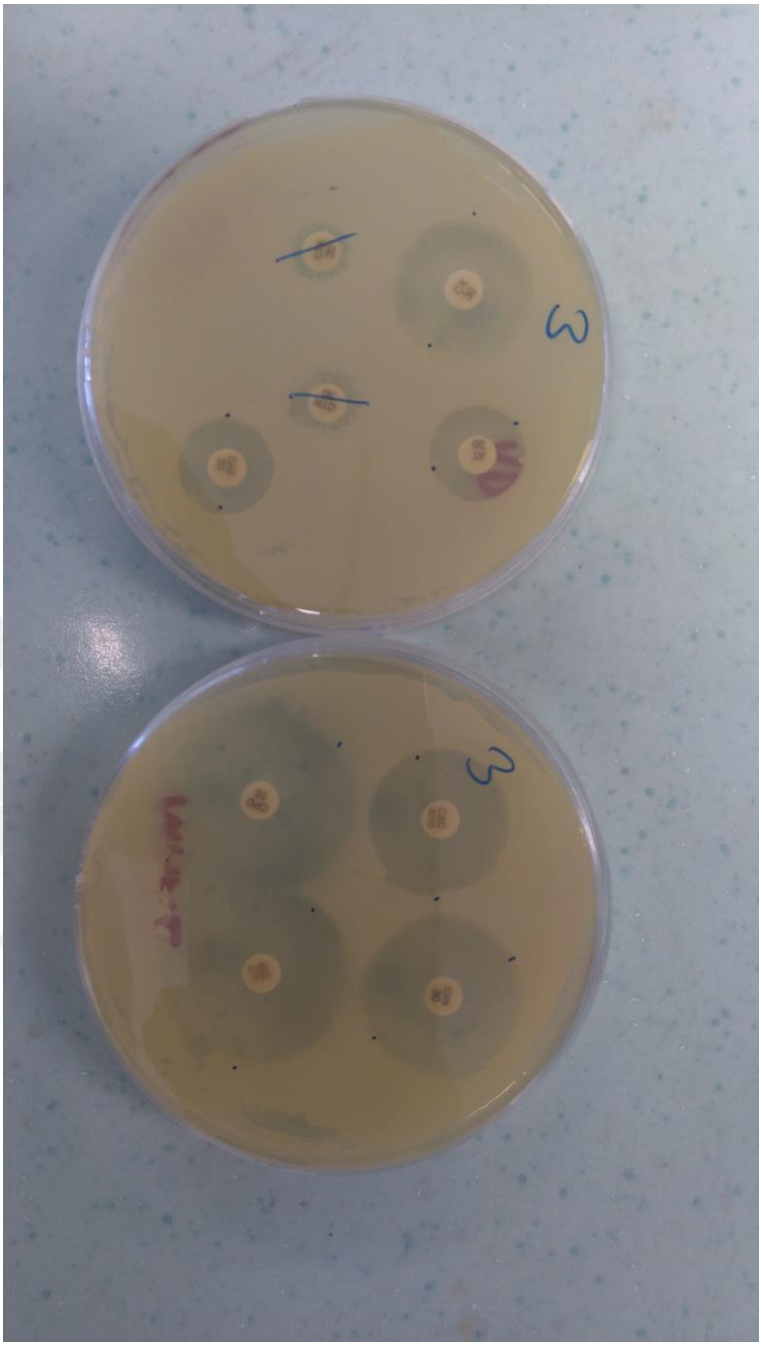
4.2.1. Fenotipik GSBL Doğrulama Testi Sonuçları

Gruplara dağılım bakılmaksızın tarama testi sonucunda pozitif bulunan 57 *E.coli* izolatının 55'inin GSBL doğrulama testi pozitif olarak saptandı. Fenotipik GSBL pozitif izolatların dağılımı, Grup 1'de 34 GSBL tarama testi pozitif *E. coli* izolatının 32'si GSBL doğrulama testi pozitif olarak saptandı. Grup 2, 3 ve 4'te GSBL tarama testi pozitif olan *E. coli* izolatlarının tümünün GSBL doğrulama testleri pozitif olarak belirlendi.

Sonuç olarak sefotaksim katkılı MacConkey agardan tarama testine bakılmaksızın grup 1'de izole edilen 48 izolatın 32 (%66,6)'sinin, grup 2'de izole edilen 20 izolatın 13 (%65)'ünün, grup 3'te 10 izolatın 8 (%80)'inin, ve grup 4'te izole edilen 6 izolatın 2 (%33,3)'sinin fenotipik GSBL pozitif *E. coli* olduğu belirlendi (Toplamda sefotaksime dirençli 84 *E. coli* izolatının 55 (%65,47)'inin fenotipik GSBL olduğu saptandı; Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5).

4.2.2. Fenotipik AmpC Tanımlama Testi Sonuçları

Sefotaksimli MacConkey agarda üreyen *E. coli* izolatlarına (n=84) uygulanan AmpC tanımlama testi sonucunda 12 (%14,28) *E. coli* izolatının AmpC aktivitesine sahip olduğu belirlendi. Bu bulguların gruplara dağılımı; Grup 1'de elde edilen 48 *E. coli* suşunun 9 (%18,8)'unda, Grup 2'deki 20 izolattan 1(%5)'inde, Grup 4 içerisindeki 6 izolattan 2 (%33,33)'sinde AmpC varlığı belirlendi. Grup 3'teki hayvanlardan izole edilen 10 *E.coli* izolatının hiçbirinde fenotipik AmpC direnci saptanmadı.



Şekil 4.1: GSBL Tarama ve Doğrulama Testleri

4.2.3. GSBL ve/veya AmpC Pozitif *E. coli* Dağılımı

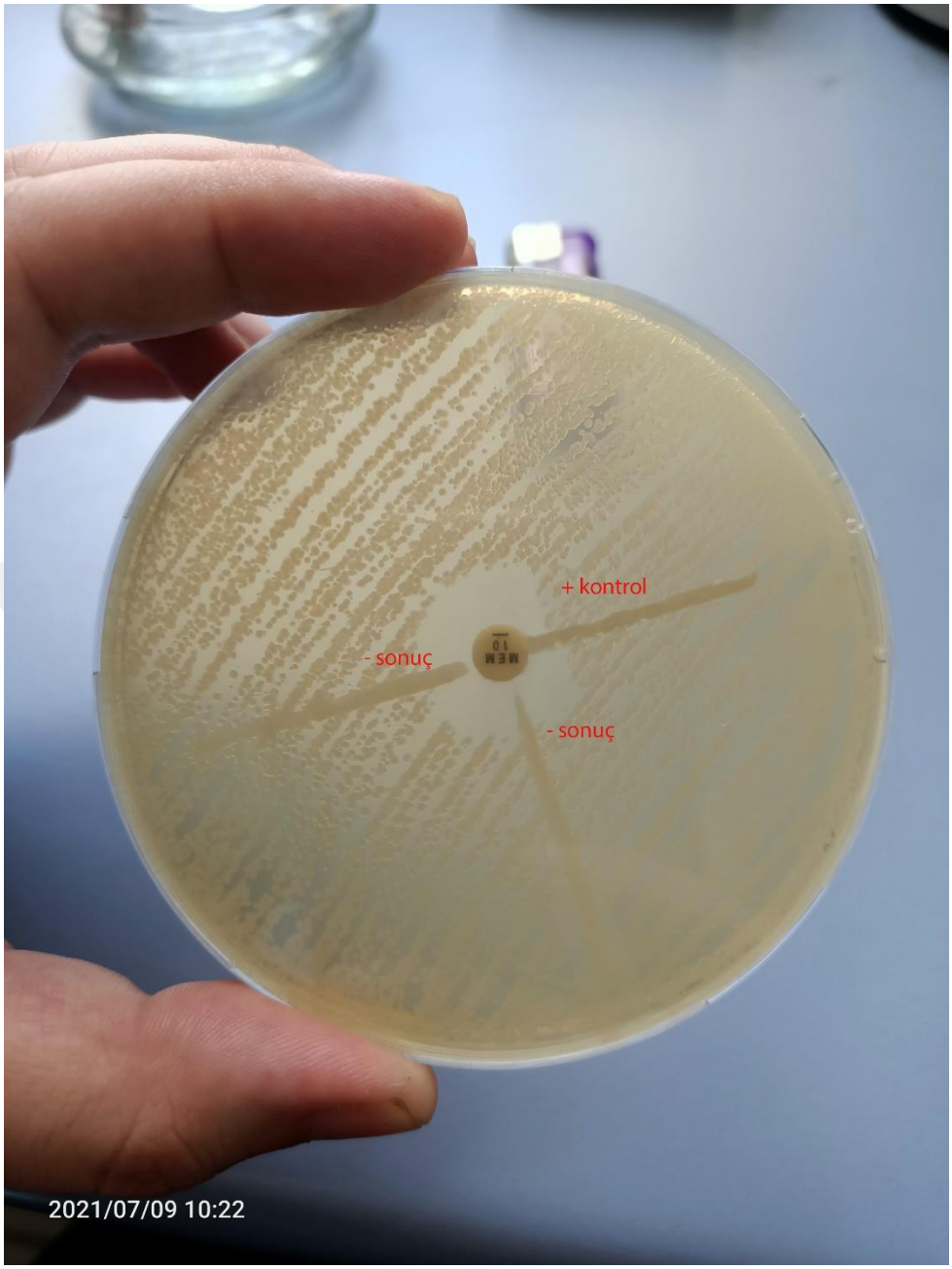
Grup 1'de Fenotipik AmpC pozitif bulunan 9 *E. coli* izolatının 4'ünde (örnek no 22, 28, 94, 101) aynı zamanda GSBL pozitif *E.coli* izolatı olduğu belirlendi (Tablo 4.2 ve 4.6).

Grup 4'de Fenotipik AmpC pozitif bulunan 2 *E. coli* izolatının 1'inin (örnek no 257) aynı zamanda GSBL pozitif *E.coli* izolatı olduğu belirlendi (Tablo 4.5 ve 4.6).

Sonuç olarak; gruplara dağılım bakılmaksızın sefotaksim dirençli 84 *E. coli* suşunun 55'inin GSBL, 12'sinin AmpC aktivitesine sahip olduğu belirlendi. Bu *E. coli* suşlarının 50'sinin yalnız GSBL, 7'sinin yalnız AmpC ve 5'inin GSBL ve AmpC aktivitelerinin her ikisine de sahip olduğu saptandı (Tablo 4.5). Gruplara göre dağılımlar ise Tablo 4.6'da ayrıntılı olarak verildi.

4.2.4. Fenotipik Karbapenemaz Testi (Modifiye Hodge Testi) Sonuçları

Sefotaksimsiz MacConkey agarda üreyen *E.coli* izolatlarının tamamına uygulanan Modifiye Hodge Testi sonucunda *E.coli* izolatlarının (n=212) hiçbirisinde karbapenem direnci saptanmadı.



Şekil 4.2: Modifiye Hodge Testi

Tablo 4.2: Grup 1'e ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları

	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
Örnek No	CTX	CTR	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
4a	20	22	17	30	24	-	20	18	17	24	-	R	S	+
4b	14	17	21	26	23	+	14	27	21	29	+	S	S	-
16	0	11	16	30	16	+	0	27	16	30	+	S	S	-
17	0	12	12	29	14	+	0	20	12	26	+	R	R	-
18a	19	20	15	27	17	+	19	27	15	30	+	S	S	-
18b	16	19	17	30	22	-	16	15	17	22	-	R	R	-
20	0	0	16	26	11	+	0	24	16	28	+	S	S	-
21a	0	0	15	17	17	+	0	26	15	30	+	S	S	-
22	0	0	15	14	16	+	0	13	15	24	+	R	S	+
26a	12	14	23	30	22	-	12	20	23	28	-	R	S	+
26b	12	14	23	27	21	-	12	26	23	30	-	S	S	-
27a	12	16	22	30	22	+	12	28	22	30	+	S	S	-
27b	0	10	18	29	17	+	0	18	18	24	+	S	S	-
28	9	0	20	28	18	+	9	26	20	33	+	R	S	+
34b	18	21	18	15	25	+	18	17	18	25	+	S	S	-
38	8	11	16	28	16	+	8	27	16	30	-	R	R	-
41	18	22	16	22	23	+	18	15	16	23	+	S	S	-
42	0	8	14	30	11	-	0	27	14	31	-	R	R	-
43	11	15	26	30	25	+	11	30	26	30	+	S	S	-
44	0	0	15	20	18	-	0	29	15	30	-	S	S	-
45	9	12	19	15	19	+	9	27	19	30	+	S	S	-
46	9	13	18	28	20	+	9	25	18	30	+	S	S	-
47	0	0	18	23	18	+	0	30	18	27	+	S	S	-
51	10	17	14	12	24	+	10	15	14	23	+	S	S	-
52	0	0	18	30	19	-	0	26	18	28	-	R	S	+
53	0	0	0	0	0	+	0	0	0	12	+	S	S	-
66	0	0	0	20	0	-	0	0	0	0	-	R	R	-
67	0	0	18	19	20	-	0	30	18	30	-	R	R	-
69	20	22	17	30	24	+	20	18	17	24	+	S	S	-

Tarama Testi Pozitifliği **GSBL Doğrulama Pozitifliği**

AmpC Pozitifliği

CTX: Sefotaksim CTR: Seftriakson CAZ: Seftazidim CPD: Sefpodoksim ATM: Aztreonam

CTX/CLA: Sefotaksim-Klavulanik Asit CAZ/CLA: Seftazidim-Klavulanik Asit

CFX: Sefoksitin CPM: Sefepim

Tablo 4.2: (Devam) Grup 1'e ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları

	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
Örnek No	CTX	CTR	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
71	15	17	24	27	26	+	15	30	24	30	+	S	S	-
84	0	12	18	23	20	+	0	28	18	30	+	S	S	-
85	0	12	16	27	16	+	0	25	16	26	+	S	S	-
86	13	15	20	19	20	+	13	28	20	30	+	S	S	-
91	9	12	17	25	19	+	9	24	17	29	+	S	S	-
93	16	19	9	24	10	-	16	19	9	23	-	S	S	-
94	0	10	15	14	17	+	0	16	15	21	+	R	S	+
98	0	0	16	28	18	+	0	26	16	28	+	S	S	-
101	0	11	10	20	18	+	0	24	10	17	+	R	S	+
108	17	20	16	14	23	-	17	24	16	19	-	R	S	+
109	17	28	19	21	28	-	17	22	19	17	-	R	S	+
111	0	8	13	21	13	+	0	30	13	26	+	S	S	-
116	19	17	17	18	23	+	19	20	17	17	-	S	S	-
124	31	31	29	27	31	-	31	30	29	27	-	S	S	-
140	22	20	18	25	15	-	22	22	18	30	-	S	S	-
143	12	15	20	21	20	+	12	30	20	30	+	S	S	-
146	12	18	15	15	17	+	12	26	15	28	+	S	S	-
202	14	20	15	30	16	+	14	27	15	30	+	S	S	-
210	12	10	22	18	16	+	12	30	22	30	+	S	S	-

Tarama Testi Pozitifliği **GSBL Doğrulama Pozitifliği**

AmpC Pozitifliği

CTX: Sefotaksim CTR: Seftriakson CAZ: Seftazidim CPD: Sefpodoksim ATM: Aztreonam

CTX/CLA: Sefotaksim-Klavulanik Asit CAZ/CLA: Seftazidim-Klavulanik Asit

CFX: Sefoksitin CPM: Sefepim

Tablo 4.3: Grup 2'ye ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları

	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
Örnek No	CTX	CTR	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
3a	0	0	15	30	15	+	0	24	15	28	+	S	S	-
8	19	23	20	30	26	-	19	18	20	26	-	R	R	-
25	11	13	16	23	17	+	11	27	16	29	+	S	S	-
35	12	13	21	23	19	+	12	30	21	30	+	S	S	-
37	9	12	16	28	18	+	9	25	16	28	+	S	S	-
50	10	0	19	30	18	+	10	30	19	30	+	S	S	-
58	12	13	20	30	20	+	12	30	20	28	+	S	S	-
60	0	0	17	28	18	+	0	29	17	30	+	S	S	-
61	0	0	13	30	13	+	0	26	13	29	+	S	S	-
65	0	0	24	30	23	+	0	30	24	30	+	S	S	-
88	11	14	19	31	20	+	11	30	19	30	+	S	S	-
99	14	15	9	33	11	-	14	19	9	22	-	R	R	-
117	0	22	12	25	20	+	0	29	12	25	+	S	S	-
129	21	22	21	25	22	-	21	26	21	30	-	S	S	-
132	25	22	22	25	18	-	25	29	22	29	-	R	S	+
142	15	22	15	27	17	+	15	24	15	29	+	S	S	-
144	18	18	22	22	20	+	18	24	22	30	+	S	S	-
145	25	32	27	24	29	-	25	30	27	28	-	S	S	-
191	0	22	26	29	18	-	0	29	26	29	-	S	S	-
195	12	23	18	27	17	-	12	30	18	22	-	S	S	-

Tarama Testi Pozitifliği **GSBL Doğrulama Pozitifliği**
AmpC Pozitifliği

CTX: Sefotaksim CTR: Seftriakson CAZ: Seftazidim CPD: Sefpodoksim ATM: Aztreonam
CTX/CLA: Sefotaksim-Klavulanik Asit CAZ/CLA: Seftazidim-Klavulanik Asit
CFX: Sefoksitin CPM: Sefepim

Tablo 4.4: Grup 3'e ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları

	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
Örnek No	CTX	CTR	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
6	13	13	26	30	25	-	13	26	26	30	-	S	S	-
23	0	10	14	14	16	+	0	12	14	23	+	R	R	-
36	13	15	21	29	22	+	13	30	21	30	+	S	S	-
72a	9	12	17	28	18	+	9	27	17	30	+	S	S	-
72b	0	0	14	26	13	+	0	26	14	30	+	S	S	-
121	26	32	27	30	30	-	26	32	27	30	-	S	S	-
122	11	13	18	25	20	+	11	30	18	27	+	S	S	-
123	15	18	29	35	30	+	15	36	29	38	+	S	S	-
229	14	22	16	27	16	+	14	24	16	28	+	S	S	-
232	13	15	20	22	18	+	13	28	20	24	+	S	S	-

Tarama Testi Pozitifliği

GSBL Doğrulama Pozitifliği

AmpC Pozitifliği

CTX: Sefotaksim CTR: Seftriakson CAZ: Seftazidim CPD: Sefpodoksim ATM: Aztreonam

CTX/CLA: Sefotaksim-Klavulanik Asit CAZ/CLA: Seftazidim-Klavulanik Asit

CFX: Sefoksitin CPM: Sefepim

Tablo 4.5: Grup 4'e ait GSBL, GSBL Doğrulama ve AmpC Sonuçları

	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
Örnek No	CTX	CTR	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
154	28	24	22	30	16	-	28	30	22	28	-	S	S	-
177	16	22	28	25	20	-	16	30	28	30	-	S	S	-
206	14	0	16	27	13	+	14	30	16	30	+	S	S	-
242	12	16	23	22	20	-	12	27	23	27	-	R	S	+
257	16	17	23	33	21	+	16	28	23	30	+	R	S	+
259	12	0	23	28	20	-	12	24	23	15	-	R	R	-

Tarama Testi Pozitifliği

GSBL Doğrulama Pozitifliği

AmpC Pozitifliği

CTX: Sefotaksim CTR: Seftriakson CAZ: Seftazidim CPD: Sefpodoksim ATM: Aztreonam

CTX/CLA: Sefotaksim-Klavulanik Asit CAZ/CLA: Seftazidim-Klavulanik Asit

CFX: Sefoksitin CPM: Sefepim

Tablo 4.6: Gruplara göre fenotipik GSBL ve/veya AmpC üreten izolatların dağılımı

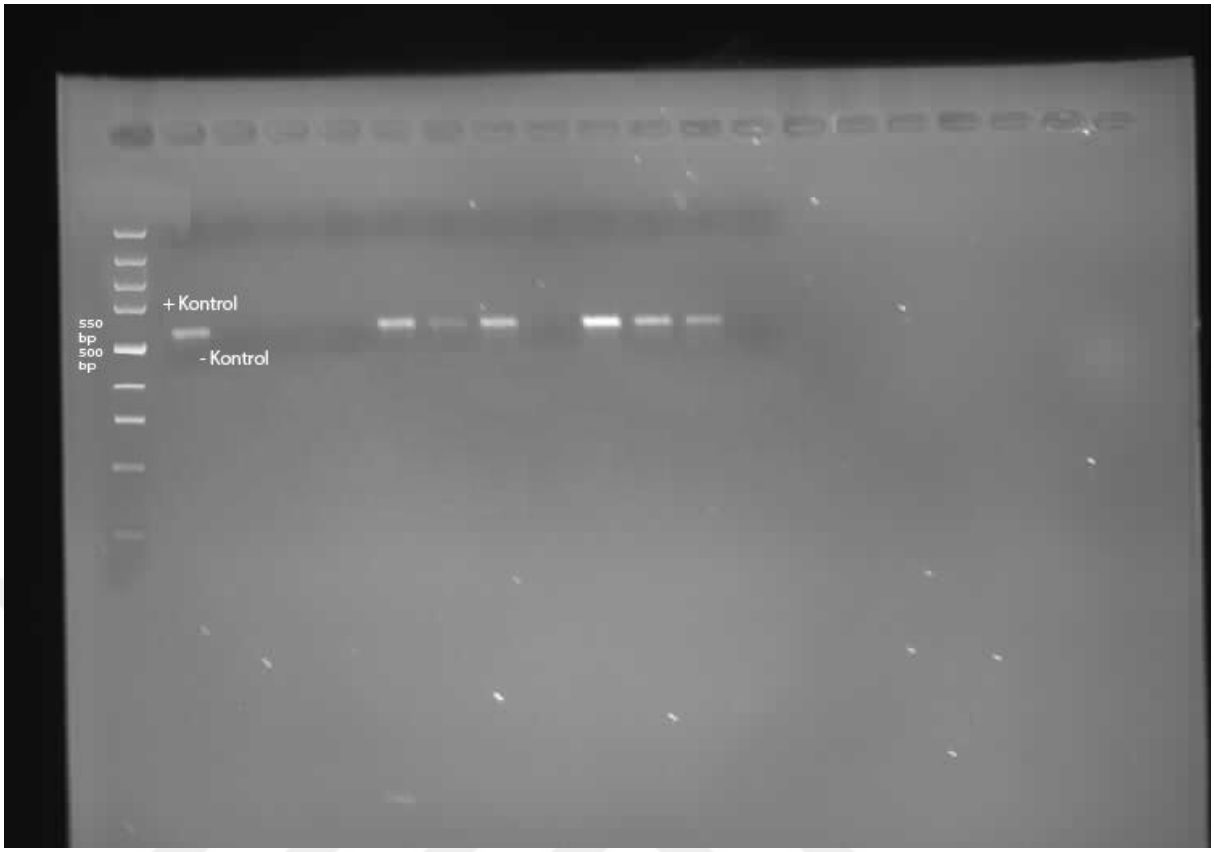
Gruplar ve örnek sayıları	Sefotaksimli MacConkey'de üreyen izolat sayısı (n)	GSBL pozitif izolat sayısı, yüzdesi	AmpC pozitif izolat sayısı, yüzdesi	GSBL ve AmpC pozitif izolat sayısı, yüzdesi	Yalnız GSBL pozitif izolat sayısı, yüzdesi	Yalnız AmpC tanımlama testi pozitif izolat sayısı, yüzdesi	Grup bazında GSBLve/veya AmpC pozitif toplam izolat sayısı, yüzdesi
Grup 1 n=68	**48/68**	**32/48 (%66.7)**	**9/48 (%18,75)**	**4/48 (%8,3)**	**28/48 (%58,3)**	**5/48 (% 10,42)**	**37/68 (%54,4)**
Grup 2 n=68	**20/68**	**13/20 (%65)**	**1/20 (%5)**	-	**13/20 (%65)**	**1/20 (%5)**	**14/68 (%20,6)**
Grup 3 n=68	**10/68**	**8/10 (%80)**	-	-	**8/10 (%80)**	-	**8/68 (%11,8)**
Grup 4 n=68	**6/68**	**2/6 (%33,3)**	**2/6 (%33,3)**	**1/6 (%16,6)**	**1/6 (16,6)**	**1/6 (16,6)**	**3/68 (%4,41)**
Toplam n=272	**84/272**	**55/84 (%65,47)**	**12/84 (% 14,28)**	**5/84 (%5,95)**	**50/84 (%59,52)**	**7/84 (% 8,33)**	**62/272 (%22,8)**

4.3. PCR Sonuçları

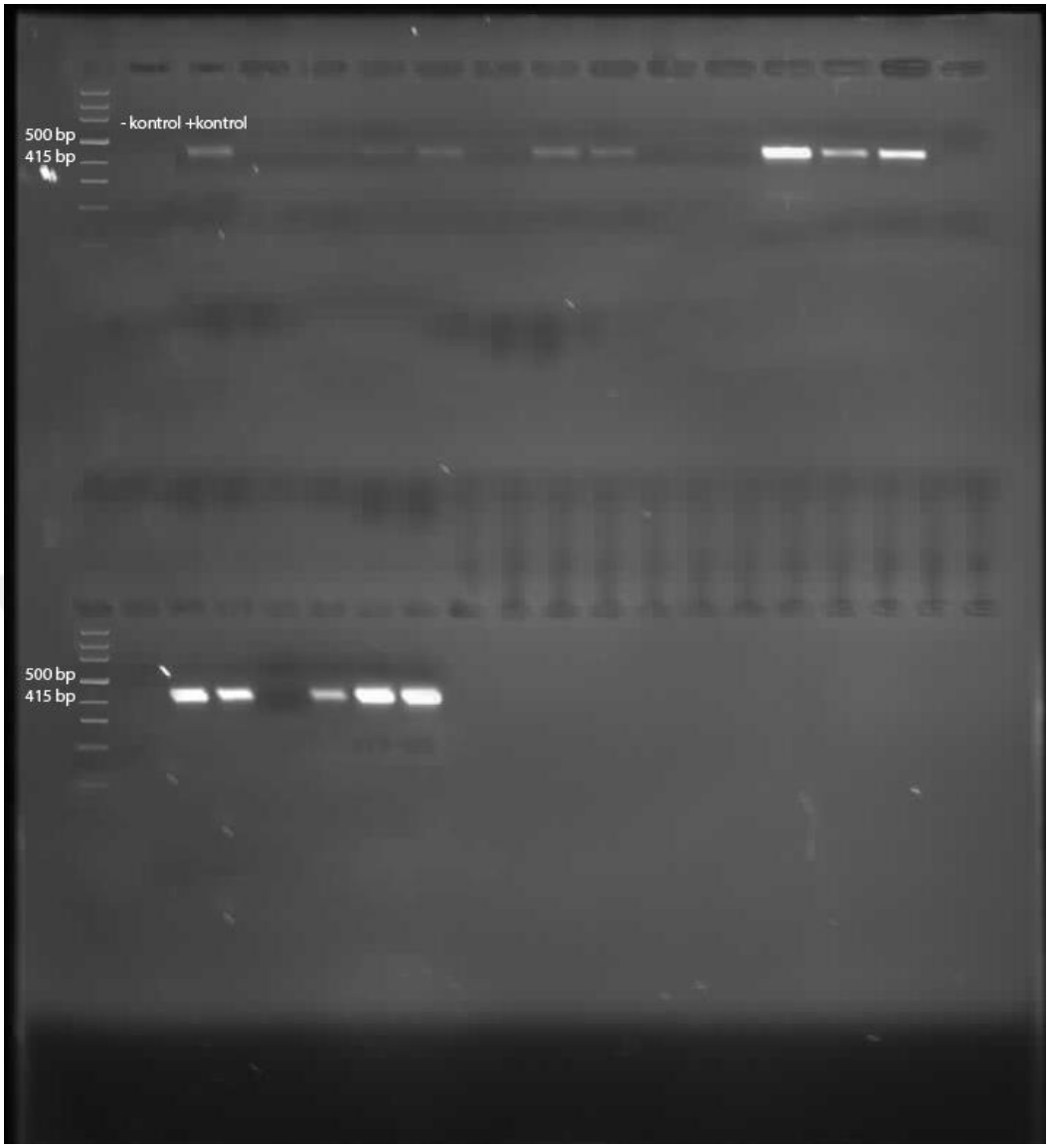
Sefotaksimli MacConkey agarda üremiş 84 *E.coli* izolatının fenotipik sonuçlarına bakılmaksızın 53'ünün GSBL, 8'inin AmpC aktivitesini kodlayan genler yönünden pozitif olarak bulundu.

Bu sonuçları fenotipik ve genotipik olarak değerlendirdiğimizde fenotipik GSBL pozitif olarak belirlenen 55 suşun 41'i genotipik olarak da pozitif bulundu. Bununla birlikte fenotipik olarak negatif olan 29 izolatın 12'sinin ise genotipik olarak pozitif olduğu belirlendi.

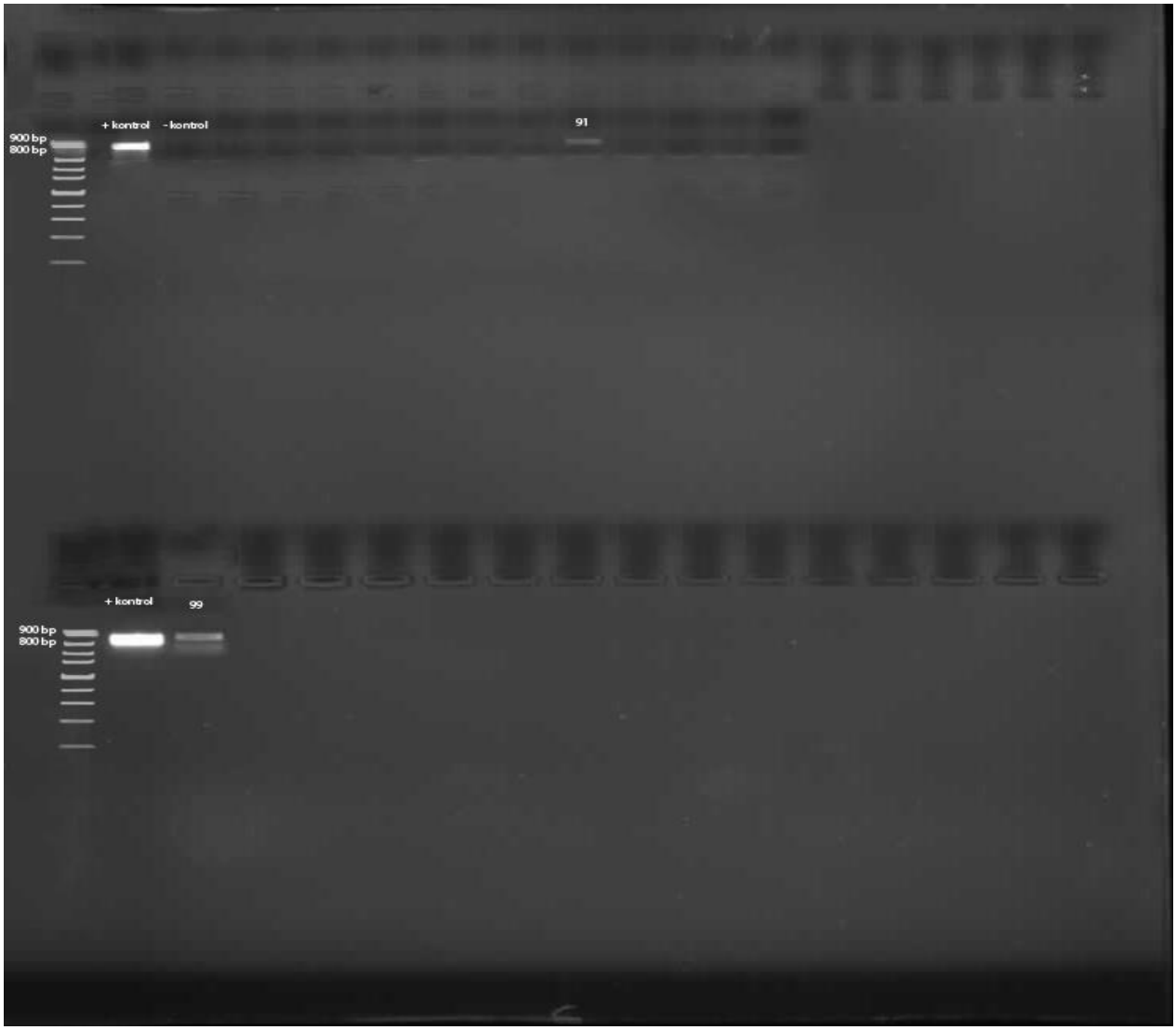
AmpC fenotipik tanımlama testi pozitif olarak saptanan 12 izolatın 8'inin genotipik olarak pozitif olduğu bulundu. Fenotipik AmpC tanımlama testi negatif olarak saptanan izolatların hiçbirinde genotipik pozitiflik saptanmadı.



Şekil 4.3: CTX-M Grubu PCR Sonuç Örneği



Şekil 4.4: CTX-M Grup 1 Sonuçları



Şekil 4.5: SHV Grubu PCR Sonuçları

4.3.1. Gruplara göre GSBL ve AmpC kodlayan gen dağılımları

4.3.1.1. Grup 1 Marmara bölgesinde yerleşik yabani deniz kuşlarına (karabatak, martı, gri balıkçıl gibi denizlerde ve göllerde yaşayanlar)

Sefotaksimli MacConkey Agar'da üremiş 48 *E.coli* izolatının fenotipik sonuçlarına bakılmaksızın 26 sının GSBL, 6'sının AmpC genotipik aktivitesinin (kodlayan gen varlığı) pozitif olduğu belirlendi.

Fenotipik ve genotipik bulguları karşılaştırdığımızda fenotipik GSBL aktivitesi pozitif olan 32 izolatın 22'sinin, fenotipik GSBL aktivitesi negatif olan 16 izolatın 4'ünün genotipik düzeyde pozitif olduğu belirlendi.

Fenotipik AmpC pozitif 9 suşun 6'sının genotipik olarak pozitif olduğu belirlendi.

Grup 1'de genotipik olarak GSBL (n=26) ve AmpC (n=6) enzim genleri saptanan izolatlarda ana ve alt grupların dağılımı belirlendi. Dağılım *bla*$_{\text{CTX-M}}$ (n=25), *bla*$_{\text{SHV}}$ (n=1), *bla*$_{\text{OXA1}_0}$ (n=6), *bla*$_{\text{MOX}}$ (n=5), *bla*$_{\text{CIT}}$ (n=1) geni olarak belirlendi. Bu grupta 7 izolatta (örnek no. 26a, 27a, 91, 94, 98,101,116) GSBL ve/veya AmpC enzim gen gruplarının kombine olduğu belirlendi (Tablo 4.8).

4.3.1.2. Grup 2 (Marmara bölgesinde yerleşik (şehirlerde yaşayan) yabani karakuşlarına (kuşlar; kumru, güvercin, karga, serçe vb.)

Sefotaksimli MacConkey Agar'da üremiş 20 *E.coli* izolatının fenotipik sonuçlarına bakılmaksızın 15'inin GSBL, 1'inin AmpC genotipik aktivitesinin pozitif olduğu belirlendi.. Fenotipik GSBL pozitif 13 izolatın 11'inin, negatif 7 izolatın ise 4'ünün genotipik olarak aktivitesinin pozitif olduğu saptandı.

AmpC aktivitesi fenotipik test sonucu pozitif olan 1 suşun genotipik düzeyde de pozitif olduğu belirlendi.

Grup 2'de genotipik olarak GSBL (n=15) ve AmpC (n=1) enzim genleri saptanan izolatlarda ana ve alt grupların dağılımı *bla*$_{\text{CTX-M}}$ (n=15), *bla*$_{\text{SHV}}$ (n=1), *bla*$_{\text{OXA10}}$ (n=1), *bla*$_{\text{MOX}}$ (n=1) geni olarak belirlendi.

Bu grupta 2 *E.coli* izolatında, örnek no 99 da *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{SHV}}$ ve *bla*$_{\text{OXA10}}$ nun GSBL ve örnek no 132 de *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{MOX}}$ GSBL ve AmpC enzim gen gruplarının kombine olduğu belirlendi(Tablo 4.9).

4.3.1.3. Grup 3 Marmara bölgesinde periyodik olarak konaklayan kış göçmenleri (Şubat ayına kadar ülkemizde bulunan ve yerli olarak yaşayan kuşlar)

Sefotaksimli MacConkey Agar'da üremiş 10 *E.coli* izolatının fenotipik sonuçlarına bakılmaksızın 7'sinin GSBL genotipik aktivitesi pozitif olarak bulundu. Bu grupta genotipik AmpC aktivitesi saptanmadı.

Fenotipik GSBL pozitif 8 *E.coli* izolatının 6'sının, negatif olan 2 izolatın 1'inin genotipik aktivitesinin pozitif olarak dağılım gösterdiği belirlendi.

Grup 3'de genotipik olarak GSBL (n=7) enzim genleri saptanan izolatlarda ana ve alt grupların dağılımı belirlendi. Dağılım *bla*$_{CTX-M}$ (n=5), *bla*$_{OXA10}$ (n=2) geni olarak belirlendi.

Bu grupta kombine enzim geni saptanmadı (Tablo 4.10)

4.3.1.4. Grup 4 (Marmara bölgesinde periyodik konaklayan yaz göçmenleri (İlkbaharda gelen kuşlar ve küçük ötücüler))

Sefotaksimli MacConkey Agarda üremiş 6 *E.coli* izolatının fenotipik sonuçlarına bakılmaksızın 5'inin GSBL, 1'inin AmpC genotipik direnç genine sahip olduğu belirlendi.

Fenotipik GSBL pozitif olan 2 izolatın 2'sinin de genotipik GSBL genine sahip olduğu, bunun yanısıra fenotipik GSBL negatif olan 4 izolatın ise 3'ünün de genotipik direnç genine sahip olduğu saptandı.

Fenotipik AmpC pozitif olan 2 suşun 1'inin genotipik direnç genine sahip olduğu bulundu.

Grup 4'de genotipik olarak GSBL (n=5) ve AmpC (n=1) enzim genleri saptanan izolatlarda ana ve alt grupların dağılımı *bla*$_{CTX-M}$ (n=5), *bla*$_{OXA10}$ (n=1), *bla*$_{CIT}$ (n=1) geni olarak belirlendi.

Bu grupta 2 *E.coli* izolatında, örnek no 242'de *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{OXA10}$ ve $_{blaCIT}$ GSBL ve AmpC ve örnek no 257'de *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{OXA10}$ GSBL enzim gen gruplarının kombine olduğu belirlendi(Tablo 4.11).

Tablo 4.7: GSBL ve AmpC Grup Genlerinin Dağılımı

	n	Yalnız GSBL Pozitif	Yalnız AmpC	GSBL ve/veya AmpC enzim gen gruplarının kombine		GSBL Grup Genleri			AmpC Grup Genleri	
				GSBL ve AmpC gruplarının kombinasyonu*	GSBL grup genleri kombinasyonu	CTX-M GrubuCTX-M Grup 1,2,8,9,15, 25)	SHV Grubu	OXA-10 Grubu	MOX Grubu (MOX-1, MOX-2, CMY-1, CMY-8-9-10-11)	CIT Grubu (LAT-1-2-3-4, CMY-2-3-4-5-6-7, BIL-1)
Grup 1	**29**	**23**	**3**	**3**	**5**	**25**	**1**	**6**	**5**	**1**
Grup 2	**15**	**14**	**-**	**1**	**1**	**15**	**1**	**1**	**1**	**-**
Grup 3	**7**	**7**	**-**	**-**	**-**	**5**	**-**	**2**	**-**	**-**
Grup 4	**5**	**4**	**-**	**1**	**1**	**5**	**-**	**1**	**-**	**1**
Toplam	**56**	**48**	**3**	**5**	**7**	**50**	**2**	**10**	**6**	**2**

**Kombinasyon sayısı yalnız olarak verilen sayılara dâhil edilmedi.*

4.3.2. Karbapenemaz Kodlayan Gen Sonuçları

Sefotaksim katkısız MacConkey'de üremiş olan 212 *E.coli* izolatına yapılan PCR sonucunda Karbapenemaz direnç genleri (bla_{KPC}, bla_{VIM}, bla_{NDM}, bla_{OXA-48}) saptanmadı.

Tablo 4.8: GRUP 1'e (Marmara bölgesinde yerleşik yabani deniz kuşları) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları

Örnek No	Fenotipik Sonuçlar		GSBL Genotipik Sonuçlar										AmpC Genotipik Sonuçlar					
	GSBL	AMP-C	CTX-M Grubu	CTX-M 1 Grubu	CTX-M 2 Grubu	CTX-M 9 Grubu	CTX-M 15 Grubu	CTX-M 8-25 Grubu	TEM Grubu	SHV Grubu	OXA 10 Grubu	PER Grubu	MOX Grubu	CIT Grubu	DHA Grubu	ACC Grubu	EBC Grubu	FOX Grubu
4a	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
4b	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18a	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21a	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26a	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
26b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
27b	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34b	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
41	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.8: (Devam) GRUP 1'e (İnsanlarla yaşayan su kuşları grubu) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları

Örnek No	Fenotipik Sonuçlar		GSBL Genotipik Sonuçlar										AmpC Genotipik Sonuçlar					
	GSBL	Amp-C	CTX-M Grubu	CTX-M 1 Grubu	CTX-M 2 Grubu	CTX-M 9 Grubu	CTX-M 15	CTX-M 8-25 Grubu	TEM Grubu	SHV Grubu	OXA 10 Grubu	PER Grubu	MOX Grubu	CIT Grubu	DHA Grubu	ACC Grubu	EBC Grubu	FOX Grubu
52	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
91	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
93	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
98	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
101	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
108	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
109	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
111	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
116	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
140	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
143	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
146	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
202	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
210	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.9: GRUP 2'ye (İnsanlarla yaşayan yabani kuşlar grubu) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları

Örnek No	Fenotipik Sonuçlar		GSBL Genotipik Sonuçlar										AmpC Genotipik Sonuçlar					
	GSBL	AMP-C	CTX-M Grubu	CTX-M 1 Grubu	CTX-M 2 Grubu	CTX-M 9 Grubu	CTX-M 15 Grubu	CTX-M 8-25 Grubu	TEM Grubu	SHV Grubu	OXA 10 Grubu	PER Grubu	MOX Grubu	CIT Grubu	DHA Grubu	ACC Grubu	EBC Grubu	FOX Grubu
3a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
99	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
117	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
129	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
132	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
142	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
144	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
145	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
191	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
195	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.10: GRUP 3'e (Kışın yerleşik olarak bulunan yabani kuşlar grubu) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları

Örnek No	Fenotipik Sonuçlar		GSBL Genotipik Testler										AmpC Genotipik Testler					
	GSBL	AMP-C	CTX-M Grubu	CTX-M 1 Grubu	CTX-M 2 Grubu	CTX-M 9 Grubu	CTX-M 15 Grubu	CTX-M 8-25 Grubu	TEM Grubu	SHV Grubu	OXA 10 Grubu	PER Grubu	MOX Grubu	CIT Grubu	DHA Grubu	ACC Grubu	EBC Grubu	FOX Grubu
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72a	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72b	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
121	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
122	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
123	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
229	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
232	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.11: GRUP 4'e (Yazın göçen yabani kuşlar ve küçük ötücüler) ait GSBL ve AmpC Genotipik Direnç Geni Sonuçları

Örnek No	Fenotipik Sonıuçlar		GSBL Genotipik Testler										AmpC Genotipik Testler					
	GSBL	AMP-C	CTX-M Grubu	CTX-M 1 Grubu	CTX-M 2 Grubu	CTX-M 9 Grubu	CTX-M 15 Grubu	CTX - M 8-25 Grubu	TEM Grubu	SHV Grubu	OXA 10 Grubu	PER Grubu	MOX Grubu	CIT Grubu	DHA Grubu	ACC Grubu	EBC Grubu	FOX Grubu
154	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
177	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
206	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
242	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
257	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
259	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4.4. Türlere Göre Bulgular

Bazı örneklerin (Örnek No 4,18,26,27,72) sefotaksimli MacConkey aşamasında elde edilen izolatlarında, farklı makroskobik koloni morfolojilerin saptanması nedeniyle aynı hayvana ait olan şüpheli izolatların ayrılması amacıyla a ve b şeklinde sınıflandırılma yapıldı (Örn: 4a ve 4b). Bu ayrımlar dikkate alınmadan hayvan sayısına göre saptanan *E. coli* izolatlarının fenotipik direnç aktiviteleri değerlendirildiğinde 272 kuşun 59'unda fenotipik antimikrobiyal direnç olduğu belirlendi. Bu 59 kuşun 47'si sadece GSBL, 6'sı sadece AmpC ve 6'sı GSBL ve AmpC fenotipik dirence sahipti.

Grup 1'de (Marmara bölgesinde yerleşik yabani deniz kuşlarına (karabatak, martı, gri balıkçıl gibi denizlerde ve göllerde yaşayanlar) incelenen su kuşlarının (n=68) 35'inde fenotipik antimikrobiyal dirence sahip *E. coli* (n=37) izole edildi. Bu 35 su kuşundan izole edilen, *E. coli* izolatlarının sahip oldukları Beta Laktamaz enzimlerine göre direnç profilleri kuş bazında 26 kuşta yalnız GSBL, 4 kuşta yalnız AmpC ve 5 kuşta GSBL ve AmpC birlikte belirlendi. Fenotipik direnç profiline sahip 35 su kuşunun 34(29'u Gümüş Martı, 5'i Küçük Martı)'ü martı ve 1'i Gri Balıkçıldı. Bu grupta örnek alınan martı dışkılarının %57,6 (34/59)oranında fenotipik dirençli *E.coli* taşıdığı belirlendi.

Grup 1 'de sefotaksimli MacConkey'de üreyen *E. coli* izolatlarının (n=48)genotipik direnç geni taşıyan hayvan sayısı 28 olarak bulundu. Bunların 23'ü Gümüş martı, 4'ü küçük martı,1'i Gri balıkçıl türüne aitti. GSBL genlerinin bu gruptaki dağılımı 25'in $bla_{\text{CTX-M}}$ grubu gene sahip izolat olduğu belirlendi. Bu 25 izolatın 15 tanesinin $bla_{\text{CTX-M-1}}$ grubunda olduğu da saptandı. Ayrıca 6 tane $bla_{\text{OXA-10}}$, 1 tane de bla_{SVH} geni saptandı. 3 izolatta $bla_{\text{CTX-M-1}}$ ve $bla_{\text{OXA-10}}$ ortak olarak saptandı. Bir izolatta $bla_{\text{CTX-M-1}}$, $bla_{\text{OXA-10}}$ ve bla_{SVH} geni, 2 izolatta $bla_{\text{CTX-M}}$ genel grubu ve $bla_{\text{OXA-10}}$ birlikte olarak saptandı.

AmpC gen sonuçlarına bakıldığında 5 adet bla_{MOX} ve 1 adet bla_{CIT} grubu genin olduğu belirlendi. İki bla_{MOX} pozitif izolat aynı zamanda $bla_{\text{CTX-M-1}}$ grubu gene(örn no:4 ve 94), bla_{CIT} geni pozitif olan izolat, $bla_{\text{CTX-M-1}}$ ve $bla_{\text{OXA-10}}$ genlerine de sahipti (örn no:101) .

Grup 2'de (Marmara bölgesinde yerleşik, şehirlerde yaşayan yabani karakuşlarının (kuşlar; kumru, güvercin, karga, serçe vb.)) (n= 68) 14'ünde fenotipik antimikrobiyal dirence sahip *E.coli* izole edildi. Bu yabani kuşlardan izole edilen *E.coli* izolatlarının sahip oldukları Beta Laktamaz enzimlerine göre direnç profilleri kuş bazında 13 GSBL ve 1 AmpC olarak

belirlendi. Fenotipik direnç profiline sahip 14 yabani kuşun 2'si kumru, 9'u güvercin, 1'i karga ve 1'i saksağandı.

Grup 2 'de sefotaksimli MacConkey'de üreyen *E. coli* izolatlarının (n=20) fenotipik sonuçlarına bakılmaksızın genotipik incelemesi yapıldığında genotipik direnç genine sahip *E. coli* taşıyan hayvan sayısı 15 olarak bulundu. Bu 15 *E. coli* izolatının 15'inin de $bla_{\text{CTX-M}}$ grubu geni taşıdığı belirlendi. Bu 15 izolatın 7 tanesinin $bla_{\text{CTX-M-1}}$ grubunu da taşıdığı saptandı. Ayrıca bir hayvana *E. coli* izolatında $bla_{\text{CTX-M-1}}$, $bla_{\text{OXA-10}}$ ve bla_{SHV} geni birlikte olarak saptandı (örn. no 99). Farklı bir yabani kuşta $bla_{\text{CTX-M-1}}$ grubu gene sahip bir *E. coli* suşunun aynı zamanda bla_{MOX} grubu AmpC genini de taşıdığı belirlendi (örn. no: 132). Genotipik direnç genine sahip *E. coli* taşıyan 15 kuşun 12 tanesi güvercin, 1 tanesi kumru, 1 tanesi karga ve 1 tanesi saksağandı. Bu grupta fenotipik olarak negatif olan bir hayvan genotipik olarak pozitifti(örn no 99), ayrıca fenotipik olarak GSBL negatif, AmpC pozitif olan bir saksağan, genotipik olarak GSBL ve AmpC genlerini taşıyan *E. coli* barındırıyordu (örn. no 132).

Grup 3'te (Marmara bölgesinde periyodik olarak konaklayan kış göçmenlerine (Şubat ayına kadar ülkemizde bulunan ve yerli olarak yaşayan kuşlar)) incelenen kuşların (n=68) 7 sinde fenotipik antimikrobiyal dirence sahip *E. coli* (n=7) izole edildi. Bu yabani kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarının hepsinde GSBL direnci varlığı belirlendi. Fenotipik dirence sahip 7 kuşun 2 tanesi Kukumav, 2 tanesi Atmaca, 3 tanesi şahindi.

Grup 3 'de sefotaksimli Macconkey'de üreyen *E. coli* izolatlarının (n=10) genotipik incelemesi yapıldığında 7 kuşta genotipik direnç geni belirlendi. Genotipik dirence sahip 7 kuşun 1 tanesi kukumav, 2 tanesi atmaca ve 4 tanesi şahindi. Bu kuşlarda saptanan *E. coli* izolatlarının 5'inin $bla_{\text{CTX-M}}$ grubu gene sahip izolat olduğu belirlendi. Bu 5 izolatın 4 tanesinin $bla_{\text{CTX-M-1}}$ grubunda olduğu da saptandı. Ayrıca 2 kuşta sadece tane $bla_{\text{OXA-10}}$ geni belirlendi. Fenotipik ve genotipik hayvan sayısı aynı olmasına rağmen fenotipik bulgusu negatif olan (örn. No: 121) başka bir kuşta genotipik bulgusunun pozitif olduğu belirlendi.

Grup 4'te (Marmara bölgesinde periyodik konaklayan yaz göçmenlerine (İlkbaharda gelen kuşlar ve küçük ötücüler)) incelenen kuşların (n=68) 3'ünde fenotipik antimikrobiyal dirence sahip *E. coli* (n=3) izole edildi. Bu yabani kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarından 1 tanesinde GSBL, 1 tanesinde AmpC ve 1 tanesinde GSBL ve AmpC varlığı saptandı. Fenotipik dirence sahip 3 kuşun 1 tanesi sığırcık, 1 tanesi küçük karabatak, 1 tanesi de alacabalıkçıldı.

Grup 4 ‘de sefotaksimli MacConkey’de üreyen *E. coli* izolatlarının (n=6) genotipik incelemesi yapıldığında 5 tane $bla_{\text{CTX-M}}$ grubu gene sahip izolat olduğu belirlendi. Bu 5 izolatın 1 tanesinin $bla_{\text{CTX-M-1}}$ grubunda olduğu da saptandı. Ayrıca 1 tane $bla_{\text{OXA-10}}$ geni saptandı. Saptanan $bla_{\text{OXA-10}}$ genine izolatın aynı zamanda $bla_{\text{CTX-M}}$ grubu gene sahip olduğu belirlendi. $bla_{\text{CTX-M}}$ gruuna ait bir izolatın aynı zamanda bla_{CIT} grubu AmpC genine sahip olduğu belirlendi. Genotipik dirence sahip 5 kuşun 2 tanesi sığırcık, 2 tanesi alacabalıkçıl ve 1 tanesi küçük karabataktı.

Tablo 4.12: Hayvan Türleri ve Antimikrobiyal Direnç Profilleri

GRUPLAR	AMD'li hayvan türü	Fenotipik AMD'li Hayvan Sayısı	Toplam ve %	Fenotipik			Genotipik AMD'li Hayvan Sayısı	Toplam ve %	Genotipik GSBL			Genotipik AmpC		GSBL ve/veya AmpC enzim gen gruplarının kombine	
				GSBL	AmpC	GSBL ve AmpC			CTX-M	SHV	OXA-10	CIT	MOX	GSBL ve AmpC gruplarının kombinasyonu	GSBL grup genleri kombinasyonu
1	Gümüş Martı	29	35 (%51,5)	22	3	4	23	28 (%41,7)	21	1	6	1	4	4	5
	Küçük Martı	5		3	1	1	4		3	-	-	-	1	-	-
	Gri Balıkçıl	1		1	-	-	1		1	-	-	-	-	-	-
2	Güvercin	9	14 (%20,6)	9	-	-	12	15 (%22)	12	1	1	-	-	-	1
	Kumru	2		2	-	-	1		1	-	-	-	-	-	-
	Karga	2		2	-	-	1		1	-	-	-	-	-	-
	Saksağan	1		-	1	-	1		1	-	-	-	1	1	-
3	Kukumav	2	7 (%10,3)	2	-	-	1	7 (%10,3)	1	-	-	-	-	-	-
	Şahin	3		3	-	-	4		2	-	2	-	-	-	-
	Atmaca	2		2	-	-	2		2	-	-	-	-	-	-
4	Sığırcık	1	3 (%4,4)	1	-	-	2	5 (%7,3)	2	-	-	-	-	-	-
	Küçük Karabatak	1		-	1	-	1		1	-	-	1	-	1	-
	Alacabalıkçıl	1		-	-	1	2		2	-	1	-	-	-	1

4.5. İstatisksel Analiz Bulguları

Prevalans oranları (PR) ve ilgili %95 güven aralığı değerleri (%95 CI) fenotipik prevalans %23,5; genotipik prevalans ise %21 olarak saptandı.

Gruplar tek tek ele alındığında antibiyotik direnci saptama değerleri sırasıyla fenotipik ve genotipik prevalans olarak; grup 1 %57,4 ve %41,2; grup 2 %20,6 ve %23,5, grup 3 %11,8 ve %10,3 ve grup 4 %4,4 ve %8,8 olarak belirlendi.

Bütün deney grubu ve antibiyotik direnci değerlendirildiğinde pozitif ve negatif oranları sırası ile %23,5 ve %76,5 olarak saptandı ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$).

Gruplar arasında genotipik ve fenotipik antibiyotik direnç varlığının saptanması ile ilgili karşılaştırmaların istatisitksel anlamı Chi kare ve hücre değeri beşin altında olduğu durumlarda Fisher's exact testi ile incelendi.

Grup 1 ve Grup 2 arasında gerçekleştirilen istatistik araştırma sonucunda fenotipik pozitiflik oranları sırası ile %57,4 ve %20,6 olarak saptandı. İki grup arasında pozitiflik oranının karşılaştırması sonucunda aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). Genotipik pozitiflik oranları ise sırası ile %41,2 ve %23,5 olarak saptandı. İki grup arasında pozitiflik oranının karşılaştırması sonucunda aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu($p=0,028$).

Grup 1 ve Grup 3 arasında gerçekleştirilen istatistik araştırma sonucunda fenotipik pozitiflik oranları sırası ile %57,4 ve %11,8 olarak saptandı. İki grup arasında pozitiflik oranının karşılaştırması sonucunda fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). Genotipik pozitiflik oranları ise sırası ile %41,2 ve %10,3 olarak saptandı ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu $p<0,001$.

Grup 1 ve Grup 4 arasında gerçekleştirilen istatistik araştırma sonucunda fenotipik pozitiflik oranları sırası ile %57,4 ve %4,4 olarak saptandı. İki grup arasında pozitiflik oranının karşılaştırması sonucunda fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$; Fisher's exact). Genotipik pozitiflik oranları ise sırası ile %41,2 ve %8,8 olarak saptandı aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$).

Grup 2 ve Grup 3 arasında gerçekleştirilen istatistik araştırma sonucunda fenotipik pozitiflik oranları sırası ile %20,6 ve %11,8 olarak saptandı. İki grup arasında pozitiflik oranının karşılaştırması sonucunda fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu($p=0,162$). Genotipik pozitiflik oranları ise sırası ile %23,5 ve %10,3 olarak saptandı, fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,040$).

Grup 2 ve Grup 4 arasında gerçekleştirilen istatistik araştırma sonucunda fenotipik pozitiflik oranları sırası ile %20,6 ve %4,4 olarak saptandı. İki grup arasında pozitiflik oranının karşılaştırması sonucunda fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,004;Fisher's exact). Genotipik pozitiflik oranları ise sırası ile %23,5 ve %8,8 olarak saptandı, fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,020).

Grup 3 ve Grup 4 arasında gerçekleştirilen istatistik araştırma sonucunda fenotipik pozitiflik oranları sırası ile %11,8 ve %4,4 olarak saptandı. İki grup arasında pozitiflik oranının karşılaştırması sonucunda fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu (p=0,104, Fisher's exact). Genotipik pozitiflik oranları ise sırası ile %10,3 ve %8,8 olarak saptandı, fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu(p=0,771).

İstatistik çalışmalar sonucunda fenotipik olarak grup 1 ve grup 2, grup 1 ve grup 3, grup 1 ve grup 4, grup 2 ve grup 4 arasında fenotipik ve genotipik olarak; grup 2 ve grup 3 arasında sadece genotipik olarak istatistik anlamlılık saptanmıştır. Kalan bütün grup karşılaştırmaları istatistiksel anlamsız bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Küresel bir sorun olan antibiyotik direnci insanlarda, çiftlik ve kümes hayvanlarında, sucul hayvanlarda ve gıdalarda gün geçtikçe artan oranlarda bildirilmektedir (Allen ve ark., 2010; Aminov ve Mackie, 2007; Berendonk ve ark., 2015). İnsanları, hayvanları ve çevreyi etkileyen, birçok nedene bağlı olarak gelişen ve karmaşık bir sorun halini alan antimikrobiyal direncin ortaya çıkışında, normal şartlarda antibiyotiklere doğrudan maruz kalmayan yaban hayatın rolünün de hafife alınmaması gerektiği birçok araştırmada gösterilmiştir. Bunlardan biri olan kuşların yıllık göçleri sırasında hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit edebilecek dirençli mikroorganizmaları geniş coğrafi alanlara yayma potansiyelinin olduğunu bildirmişlerdir(Hubálek, 2004; Reed ve ark., 2003).

Araştırıcılar özellikle çöplükler ve atık sular gibi antropojenik kaynaklardan beslenen, şehirlerde yerleşik yaşayan sucul yabani kuşlarda antibiyotik dirençli bakteri alışverişinin şekillendiğini, gelişmişlik düzeyine göre GSBL prevalansının farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir. Özellikle kalabalık, yetersiz alt yapısı bulunan, hastane hijyeninin yeterli olmadığı, yerleşim bölgeleri ile sanayi bölgelerinin iç içe ya da yakın olduğu, şehirlerde prevalansın daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Bonnedahl & Järhult, 2014; Borges ve ark., 2017; Islam ve ark., 2021; Oteo ve ark., 2018; Poeta ve ark., 2008, Nelson ve ark. 2008).

Portekiz açıklarındaki bir adada yaşayan yerleşik martılarda yapılan bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* prevalansı %19,3 olarak belirlenmiştir. Çalışmada yüksek prevalansa dikkat çekilmiş ve bunu, Portekiz kıyılarından çok uzak olmayan bu adadaki martıların insan yiyeceği kalıntılarını yeme olasılığı ile ilişkilendirmişlerdir (Poeta ve ark., 2008). Yine Portekiz'de Porto şehrinde plajlarda yapılan bir çalışmada, martılardan elde edilen 139 *E. coli* izolatının 45 tanesinde (%32) GSBL fenotipik olarak saptanmış ve plajların direnç belirleyicilerinin yayılmasında önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir. Ayrıca Portekiz ve İskandinavya arasındaki Avrupa kıyı şeridini geçen martı gibi göçmen kuşların direnç açısından rezervuar olabilecekleri de öne sürülmüştür. (Simões, , 2010). Amerika Birleşik Devletleri, Florida sahillerinde yapılan bir çalışmada da 53 adet martı ve 10 adet pelikan dışkısından izole edilen *E. coli*'lerin 10'unda (%14) fenotipik GSBL tanımlaması yapılmış, kumsalların çeşitli

direnç belirleyicilerinin yayılmasında önemli olabileceği vurgulanmış ve yabani kuşların çoklu ilaca dirençli E coli' nin yayılmasında araç olabileceği vurgulanmıştır(Poirel ve ark., 2012).

Dokuz Avrupa ülkesinde martılarda GSBL prevalansını belirlemek amacıyla yapılan bir araştırmada, 3158 martı dışkı örneğinden izole edilen *E. coli* (n=902) ve *Klebisella* spp.(n=42 suşlarında GSBL pozitif örneklerin ülke prevalanslarında önemli farklılıklar olduğu belirtilmiş ve en yüksek prevalansın İspanya'da %74,8 saptandığını, bunu sırasıyla %37,8 ile Hollanda'nın, %27,1 ile İngiltere, %20,7 ile İsveç, %0,8 ile Polonya'nın takip ettiğini Danimarka'da hiçbir GSBL pozitif örneğin saptanmadığını vurgulamışlardır.

Bonnedahl ve ark. (2009)'nın yaptıkları bir çalışmada, Fransa'nın güney kıyı bölgesinde yer alan, Marsilya şehir çöplüğünden ve Aigues-Mortes bölgesinde açık denizden beslenen iki farklı sarı bacaklı martı kolonilerinden dışkı örnekleri alınmış, her iki tür martıların %9,4'ünün GSBL üreten *E.coli* taşıdığı ve *E. coli* izolatlarının yaklaşık yarısının (%47.1; 72/153 izolatı) en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu ve iki martı kolonisi arasında genel direnç oranlarında farkın olmadığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu yüksek direncin, nispeten yüksek antibiyotik basıncına sahip bir bölgede, uzun süre doğrudan veya dolaylı olarak insanlara maruz kalmanın bir sonucu olarak geliştiğini düşünmüşler, ayrıca Sarı Bacaklı Martılar gibi kalabalık(yoğun) kuş kolonilerinin, antibiyotik direnci taşıyan yeni *E. coli* varyantlarının yaratılması için konak olabileceğini vurgulamışlardır. Batı Avustralya'daki bir çalışmada 10 farklı güney kıyı şeridinde, ana şehir merkezleri ve sadece belli dönemlerde aktif olan tatil yörelerinden 229 gümüş martı dışkı örneği toplanmış, örneklerin %30,1'inden (n=69) antimikrobiyal dirençli *E.coli* ve %8,73'ünden (n=20) antimikrobiyal dirençli *K.pneumoniae* izole edilmiştir. Araştırmacılar antimikrobiyal dirençli izolatların kentsel bölgelerden saptandığını, yerleşim olmayan bölgelerden alınan örneklerin hiçbirinden antimikrobiyal dirençli *E.coli* izole edilmediğini belirtmişlerdir. Ayrıca *E.coli* izolatlarında florokinolon direnci, GSBL üretimi, virülent bir insan suşu olan *E. coli* ST131'in yüksek prevalansı ve ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) ST1193 izolatlarının eldesi sonucunda, antimikrobiyal dirençli *E. coli* ve *K.pneumoniae*'nin taşınması ile insan yerleşimine yakınlık arasında doğrudan bir ilişki olduğunu da vurgulamışlardır (Mukerji ve ark. 2021).

Başta güvercinler olmak üzere şehirlerde yaşayan yabani kuşların hastalık yapıcı bakteriler için bir rezervuar olduğu bilinmektedir. (Cunha ve ark., 2019). Ayrıca kargaların da

kümes hayvanları ve diğer kuşlardan daha yüksek bir GSBL prevalansına sahip olduğu gözlenmiştir (Parker ve ark. 2016).

Grup 2'ye dâhil olan insanların yaşadığı ortamlarda yaşayan yerleşik kuşlarla ilgili olarak yapılan çalışmalarda, Fransa Marsilya'nın kentsel parklarında ve sahillerinde güvercin, sarı bacaklı martı ve tavuk dışkı örneklerinden izole edilen çoklu ilaca dirençli bakterilerin varlığı araştırılmıştır. Toplanan 136 dışkı örneğinden 5 GSBL üreten *E. coli* ve 8 kolistine dirençli *Hafnia alvei* suşu izole edilmiştir. Araştırmacılar parkların ve kumsalların insan ve evcil hayvanları, kent kuşları ve çevresel sular için bir buluşma yeri olduğunu; kent kuşlarının, insan ve hayvanlar arasında GSBL üreten bakterilerin bulaşması için vektör olabileceğini bildirmiş ve bu tür bakterilerin yabani kuşlardan insanlara olası zoonotik geçişinin önemini vurgulamışlardır (Ngaiganam vd., 2019). Çin'de yapılan bir çalışmada 352 adet güvercinlerden izole edilmiş *E. coli* izolatında 211 adet GSBL, 156 adet AmpC üreten izolat tespit edilmiştir. (Ding-zhen, 2015). Brezilya São Paulo Eyaletinde kentsel güvercinlerden elde edilen 107 *E. coli* izolatın 3 tanesi GSBL pozitif bulunmuştur. Araştırmacılar yabani güvercinlerin büyük bir yoğunluğunun çoklu ilaca dirençli bakterileri barındırabileceği ve bu ajanları özellikle kentsel alanlarda yayabileceği fikrini desteklemişlerdir (Cunha ve ark., 2019). Bangladeş'te evlerde beslenen sağlıklı güvercinlerden 150 adet kloakal sürüntü alınmış ve güvercinler arasında GSBL taşıyıcılığı araştırılmıştır. GSBL üreten *E. coli* (n=7) prevalansı %5 olarak bulunmuş ve ayrıca güvercinlerin *E. coli* ST1408 gibi kuşla ilişkili dizi tiplerine sahip olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar güvercinlerin, çoklu dirençli ve GSBL üreten *E. coli* suşlarının olası rezervuarı olabileceğini varsaymış ve bu taşımanın, yakın temas nedeniyle kuştan kuşa veya kuştan insana bulaşmaya katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir (Hasan, 2014). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Hatay ilinde üç güvercin yetiştiriciliğinden 150 kloakal sürüntü örneği toplanmış, örneklerin %94.7'sinden *E. coli* izole edilmiş ve bunların %19'nun (n=27) AMR olduğu bildirilmiştir. Araştırıcılar GSBL üreten *E. coli* prevalansının düşük bulunduğunu, bunun nedeninin de farklı hayvan türlerinde gerçek prevalansın belirlenmesi için seçici izolasyon yöntemlerinin uygulanması gerektiğini belirtmişlerdir (Aslantaş ve Gövce, 2021).

Bu çalışmada "İnsanlarla yaşayan su kuşları grubu" olarak oluşturulan Grup 1'de incelenen su kuşlarında sefotaksime dirençli *E.coli* izolatlarının %54,4'ünün (37/68) fenotipik GSBL ve/veya AmpC pozitif olduğu belirlenmiştir. Bu grup fenotipik antimikrobiyal dirence sahip *E. coli* (n=37) izolatını taşıyan su kuşları yönünden incelediğinde, su kuşlarının %51,5 oranında (35/68) fenotipik direnç profiline sahip oldukları ve bu su kuşlarının 34(29'u Gümüş

Martı, 5'i Küçük Martı)'ünün martı ve 1'inin Gri Balıkçıl olduğu görülmüştür. Bu grupta örnek alınan 59 martının 34'ünün fenotipik antimikrobiyal dirence sahip olması, martılarda daha yüksek oranda saptanması elde edilen sonucun bu konu ile yapılan çalışmalara paralel olduğunu göstermiştir. Özellikle, bu çalışmanın yapıldığı İstanbul'da geniş yaşam dağılımlarına sahip olan martı türlerinin, özellikle çöplüklerden ve çeşitli ortamlarda direkt olarak insan, hayvan ve tarımsal atıklar ile beslendiği göz önüne alındığında saptanan direnç pofilinin insan ve/veya hayvan kaynaklı olduğunu düşündürmüştür.

Bu çalışmada Grup 2 "yerleşik (şehirlerde yaşayan) yabani karakuşları (kumru, güvercin, karga, serçe vb.)" içerisinde % 20,6 (14/68) fenotipik GSBL ve AmpC pozitif olarak saptanmıştır. Örnek dağılımına bakıldığında en fazla pozitiflik %64,3(14/9) ile güvercinlerde belirlenmiştir. Antibiyotiklerle direk olarak temas etmeyen yabani şehir kuşları genelde insan ve hayvan atıklarıyla yakın temas halindedir. Yüksek insan yoğunluğu ve/veya hayvan popülasyonu olan yerleşim bölgelerinde çöplükler, kanalizasyon atıkları ve kirli suya sahip dinlenme alanlarının yakınında yuva yapan, çeşitli atıklarla, gübre olarak kullanılan hayvan dışkıları ve toprak omurgasızlarıyla beslenen yabani kuşlar dirençli *E.coli* toplayıcıları ve yayıcıları olarak düşünülmüştür.

Kışı geldiği bölgede geçiren göçmen kuşların incelendiği Grup 3'le ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda, Kanada Saskatoon bölgesinde Büyük boynuzlu baykuş, Amerikan kızılgerdanı gibi kuş türlerinden elde edilen 75 *E.coli* izolatının %3,9'unda fenotipik GSBL saptandığını direnç yüzdesinin oldukça düşük olduğu bildirilmiştir. Araştırıcılar bu oranın düşüklüğünün bu bölgede insan etkileşiminin az olmasına, insan-kuş ya da kuş-insan geçişinin oldukça zor olmasından kaynaklandığını düşünmüşlerdir (Parker ve ark., 2016). Rio de Janeiro'da 353 yabani kuşun bağırsaklarından elde edilen 112 *E. coli*'de fenotipik GSBL aktivitesi saptanmıştır (Oteo ve ark., 2018).

Pakistan'da kış göçmenleri üzerinde yapılan bir çalışmada Bangladeş üzerinden geçen göç yolundan alınan dışkı örneklerinden izole edilen *E.coli* izolatlarında %17,3(26/150) GSBL pozitif izolat saptanmış, saptanan bu direncin çoğunlukla insan artıklarının doğayı kontaminasyonu sonucunda olduğu düşünülmüş ve bu yüksek oranın nedeni olarak da özellikle suyollarında insan atıklarının çok daha fazla olması belirtilmiştir (Mohsin ve ark. 2017).

Yaz göçmenleri ve küçük ötücüler grubunda yapılan çalışmalara baktığımızda, Kanada'dan Şili'ye göç eden Franklin martılarında (*Leucophaeus pipixcan*) 364 martıdan 174

E. coli izole edilmiş, elde edilen izolatların 55 tanesinde fenotipik GSBL varlığı saptanmıştır. Çalışmada kuzey bölgesinden gelen martıların bağırsak taşıyıcıları olarak Amerika Birleşik Devletleri ve/veya Kanada'da edinilen dirençli bakterileri taşıdıkları varsayımına varılmıştır (Baez 2014). Bangladeş'te yapılan bir çalışmada 66 göçmen kuştan elde edilen 55 *E. coli* izolatının 21 tanesinde (%38,18) GSBL varlığı fenotipik olarak saptanmıştır. Ayrıca bu izolatlarda çoklu antibiyotik direncinin varlığı da bildirilmiştir. Bu sonuçlarla göçmen kuşların, insan sağlığı üzerinde zararlı etkileri olabileceğini, klinik açıdan önemli diğer antibiyotik direnç genleriyle birlikte GSBL üreten *E. coli*'nin potansiyel taşıyıcıları olduğu bildirilmiştir. Araştırıcılar yabani kuşların antimikrobiyal direnç ve GSBL'nin yayılmasında önemli bir etken olduğunu, özellikle Bangladeş gibi gelişmekte olan ülkelerde hem insan hem de hayvanlardaki direncin kontrolünü sağlayabilmek için vahşi hayvanlardaki antimikrobiyal direncin sıkı şekilde takip edilmesi gerektiğini önermişlerdir(Islam ve ark., 2021). İspanya'da göçmen kuşlarla yapılan bir çalışmada %16(16/100) oranında GSBL ve AmpC direncine sahip *E. coli* saptamışlardır. Aynı şekilde Hollanda'da yapılan bir çalışmada göçmen kuşlardan alınan 414 kloakal sürüntüde %15,7 sefotaksim dirençli *E. coli* izole edilmiş, akuatik kaynaklı kuşlarda, karada yaşayan kuşlara oranla daha fazla direnç olduğu saptanmıştır (Veldman 2013). Alaska'da 2016'da yapılan bir çalışmada çeşitli bölgelerden toplanan 160 kuş izolatından 112 *E. coli* izole edilmiş (Kenai Yarımadasında 55 ve Middleton adasında 57 izolat) çoklu antibiyotik ve GSBL varlığı araştırılmıştır. Kenai Yarımadasında %16 oranında pozitiflik saptanırken, Middelton adasında saptanmamıştır Oluşan bu farklılığın, Middleton adasının insanlardan ve anakaradan uzak olmasının etkisi olduğu düşünülmüştür. Aynı şekilde anakaradan elde edilen örneklerin hem insanlara hem de insan kaynaklı atıkların biriktirildiği çöp alanlara yakın olduğu belirtilmiştir (Atterby 2016).

Tunus'ta hem yerleşik hem de yaz göçmen kuşlarla (saka, iskete, küçük papağan gibi) yapılan bir çalışmada, 111 dışkı örneğinin 12 sinde (%10,81) GSBL üreten *E. coli* izolatı tespit edilmiş ve GSBL üreten *E.coli* izolatlarının yüksek oranda dışkıyla taşındığı belirtilmiştir. Araştırmacılar elde edilen bu oranının Tunus'ta sağlıklı insanların dışkı örneklerinde tespit edilen GSBL insidansından daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. GSBL üreten *E coli'*lerin sadece insanlarda veya canlı besicilikte değil, aynı zamanda yabani kuşlarda da yaygın olduğuna dikkat çekmişlerdir (Ben Yahia vd., 2018).

Bu çalışmada 3. Grup olan Kış göçmenleri (kışı geldiği bölgede geçiren göçmen) ve vahşi yırtıcılar grubunda %11,8(8/68) oranında fenotipik olarak GSBL pozitif *E.coli* izolatı ve

%10,3 (7/68) oranında fenotipik GSBL direncine sahip yabani kuş saptanmıştır. Yaz göçmenleri ve küçük ötücüler grubunu oluşturan 4. Grupta, fenotipik olarak GSBL pozitif *E.coli* izolatı ve fenotipik GSBL direncine sahip yabani kuş %4,41(3/68) oranında saptanmıştır. Bu yabani kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarından 1 tanesinde GSBL, 1 tanesinde AmpC ve 1 tanesinde GSBL ve AmpC varlığı belirlenmiştir. Gerek grup 3 ve gerekse grup 4 de yer alan yabani kuşlar, hayvanlarla ve insanlarla yakın temas halinde olmayıp, genelde yüksek insan yoğunluğu, kanalizasyon atıkları ve kirli suya sahip dinlenme alanlarında konaklamadıkları belirlenmiştir. Bu tür yabani kuşların GSBL üreten *E. coli*'nin potansiyel taşıyıcıları olduğu ancak diğer iki gruba göre yukarıda açıklanan nedenlere bağlı olarak daha düşük orana sahip olduğu düşünülmüştür. Elde edilen sonuçların yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmalarla CTX-M tipi β-laktamazların, dünya çapında insan ve veteriner kökenli *E.coli* izolatları arasında en yaygın GSBL olduğu ortaya konulmuştur (Radhouani H. Ve ark. 2012) CTX-M enzimlerinin görülmesinde önemli coğrafi farklılıklar gözlemlenmesine rağmen, CTX-M enzimlerinin içinde *bla* $_{\text{CTX-M-1}}$'in insanlarda, evcil hayvanlarda hem de yabani hayvanlarda en çok saptanan GSBL geni olduğu bildirilmiştir(Kahraman B. ve ark 2016, Gümüş B. ve ark. 2017). Yabani kuşlarda *bla* $_{\text{CTX-M-15}}$ ve *bla* $_{\text{CTX-M-14}}$ de *bla* $_{\text{CTX-M-1}}$ den sonra sıklıkla karşılaşılan genler olduğu saptanmıştır, bunların ardından da TEM ve SHV genleri gelmektedir (Poriel L ve ark. 2012, Stedt J ve ark. 2015, Mohsin M ve ark. 2017).

Yapılan araştırmalar yerleşik yaşayan deniz ve kara yabani kuşlarda saptanan direnç genleri ve bunların prevalansı yönünden incelendiğinde, Portekiz Berlengas Milli Parkında yaşayan martılarla yapılan bir çalışmada 57 dışkı örneğinin 10'unda tespit edilen GSBL varlığı, Genotipik olarak da araştırılmış, dağılımın *bla*$_{\text{TEM}}$ grubu (8 izolat), *bla*$_{\text{OXA}}$ ve *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$ grubu (1 izolat) ve *bla*$_{\text{CTX-M-32}}$ ve *bla*$_{\text{CTX-M-14}}$ grubu (1 izolat) 0lduğu saptanmıştır (Poerta P. ve ark. 2008). Güney Fransa'da 153 gümüş martı ile yaptıkları çalışma sonucunda 17 fenotipik pozitif izolattan 10 izolatta *bla*$_{\text{CTX-M}}$ pozitif olarak saptanmıştır. Bu izolatlardan 9 tanesi *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$ ve 1 tanesi *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$ olarak belirlenmiştir. 2 izolatta *bla*$_{\text{TEM}}$ geni *bla*$_{\text{CTX-M}}$ geni ile kombine olarak bulunmuş, aynı şekilde *bla*$_{\text{SHV}}$ geni de 3 izolatta kombine, 2 izolatta tek olarak saptanmıştır (Bonnedahl J. 2009). Almanya'da 10 su kuşu izolatından 1 tanesinde *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$ geni tespit edilmiştir (Guenther ve ark. 2010). Florida Miami sahilinde yapılan bir çalışmada, bölgede yaşayan martı ve pelikanların *bla*$_{\text{CTX-M}}$ ve *bla*$_{\text{CMY-2}}$ genlerinin rezervuarı olduğu gözlenmiştir. 53 martı ve 10 pelikana ait dışkıların kullanıldığı bu çalışmada, 8 izolatın GSBL ürettiği ve

bla$_{\text{CTX-M}}$ genine sahip olduğu, bunların 5 tanesinin *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$, 2 tanesinin *bla*$_{\text{CTX-M-32}}$, 1 tanesinin *bla*$_{\text{CTX-M-2}}$ olduğu saptanmıştır. Ayrıca 16 izolatta AmpC üretimi ve *bla*$_{\text{Cmy-2}}$ geni saptanmıştır (Poriel L. ve ark 2012). Stedt ve ark. (2015) CTX-M tipi GSBL'lerin Avrupa'daki martıların fekal mikrobiyotasında yaygın olduğunu belirtmişler, kentsel ve tarım alanlarından yararlanan birçok martı türünün, göçleri nedeniyle antibiyotik direnç genlerinin küresel yayılmasına katkıda bulunma riski olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca yüksek çevresel GSBL seviyelerinin endişe verici olduğuna dikkat çekmişlerdir. Mukerji ve ark.2019, Avustralya'nın kıyılarında sürü halinde yaşayan ve yüksek düzeyde insan teması olan gümüş martılarında, kritik öneme sahip antimikrobiyallere dirençli 562 dışkı örneğinden elde edilen *E. coli* izolatlarının epidemiyolojisi ve kökenlerini araştırmışlar, izolatlarının %41'inde *bla*$_{\text{TEM}}$, %29'unda *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$, %13'ünde *bla*$_{\text{Cmy-2}}$, %12'sinde *bla*$_{\text{CTX-M-27}}$ ve %6'sında *bla*$_{\text{CTX-M-14}}$ genlerine rastlanmıştır. Genom dizilimi sonrası, izolatların ST131 (%17), ST10 (%8), ST1193 (%6), ST69 (%5) ve ST38 (%4) içeren insanla ilişkili ekstraintestinal patojenik E coli (ExPEC) klonlarına ait oldukları ortaya koyulmuştur. Araştırmacılar martıların ekolojik süngerler gibi davranabileceği, ayrım gözetmeksizin hem patojenik hem de apatojenik kritik öneme sahip antimikrobiyallere dirençli bakterileri biriktirdiğini ve bunları insanları ve daha geniş çevreyi kapsayan bir döngüde potansiyel olarak yaydığı kanaatine varmışlardır. Breziya'da yapılan bir çalışmada şehirde yaşayan güvercinlerden toplanan 107 örnekten GSBL için *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$ ve *bla*$_{\text{SHV}}$, AmpC için *bla*$_{\text{CMY}}$, *bla*$_{\text{ACT}}$, *bla*$_{\text{ACC}}$, *bla*$_{\text{FOX}}$, *bla*$_{\text{DHA}}$ gruplarına ait genler incelenmiş, üç izolatta *bla*$_{\text{CTX-M}}$ pozitif olarak saptanmış, bunlardan iki tanesi *bla*$_{\text{CTX-M-8}}$, bir tanesi de *bla*$_{\text{CTX-M-2}}$ olarak belirlenmiştir. Hiçbir izolatta AmpC direnci saptanmamıştır (Marcos P.V ve ark. 2019). Fransa, Marsilya'da 2019 yılında Ngaiganam L. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Şehir parklarında yaşayan 71 güvercin ve 28 tavuktan elde edilen dışkı örneklerinde *bla*$_{\text{CTX-M,}}$ *bla*$_{\text{TEM}}$, *bla*$_{\text{SHV,}}$ *bla*$_{\text{PER}}$ ayrıca Karbapenem genlerinden *bla*$_{\text{KPC,}}$ *bla*$_{\text{VIM,}}$ *bla*$_{\text{NDM,,}}$ *bla*$_{\text{OXA-23}}$ *bla*$_{\text{OXA-24}}$ *bla*$_{\text{OXA-48}}$ ve *bla*$_{\text{OXA-58}}$ genlerinin varlığı incelenmiş, 3. Kuşak sefolosporinlere dirençli izolatların tamamında *bla*$_{\text{CTX-M}}$ ve *bla*$_{\text{TEM}}$ geni saptanmış, diğer GSBL ve Karbapenem genleri saptanmamıştır.

Nijerya'da yapılan bir çalışmada Balıkçıl, Yaban Ördeği ve Sığırların fekal örnekleri incelenmiş ve elde edilen E. colilerdeki GSBL genleri tespit edilmiştir. Elde edilen örneklerin %89'u *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$, %11'i *bla*$_{\text{CTX-M-9}}$ grubu genleri içerdiği saptanmıştır (Fashae K. ve ark. 2021).

Türkiye'de veteriner hekimlik alanında gram negatif bakterilerdeki beta laktamaz aktivitesine baktığımızda, sığır dışkılarından elde edilen *E. coli* izolatlarından 2008 yılında *bla*$_{SHV-5}$, *bla*$_{SHV-12}$ ve *bla*$_{TEM-1}$ genlerinin varlığı saptandığı görülmektedir (Küçükbasmacı ve ark. 2008). 2016 yılında Pehlivanoğlu ve ark. yine sığır dışkılarından elde edilen E. coli lerde *bla*$_{CTX-M-1}$, *bla*$_{CTX-M-3}$, *bla*$_{CTX-M-15}$, *bla*$_{TEM-1}$ ve *bla*$_{SHV-12}$ tipi beta laktamaz genlerini saptamıştır. 2017 yılında ise Aslantaş ve ark. *bla*$_{CTX-M-1}$, *bla*$_{CTX-M-3}$, *bla*$_{CTX-M-15}$, *bla*$_{TEM-1}$ ve *bla*$_{CMY-2}$ genlerinin varlığını saptamışlardır. 2018 yılında buzağılarda yapılan bir çalışmada ise izole edilen *E. coli*'lerden *bla*$_{CTX-M}$ ve *bla*$_{TEM}$ grubu beta laktamazların varlığı saptanmıştır (Yıldırım ve Pehlivanoğlu 2018).

Koyunlarda yapılan bir çalışmada ise rektal sürüntülerden elde edilen *E. coli* izolatlarında *bla*$_{CTX-M-3}$, *bla*$_{CTX-M-15}$ ve *bla*$_{TEM-1}$ genlerinin varlığı ortaya konulmuştur (Pehlivanoğlu ve ark. 2018).

Türkiye için ekonomik önemi büyük olan kanatlı sektöründe de benzer çalışmaların yapıldığı literatürde görülmektedir. Marmara Bölgesi'nde sağlıklı yumurtacı ve etçi tavukların dışkı ve et örneklerinde GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* prevalansını dışkı örneklerinde %11,4; et örneklerinde %1,3 olarak saptamışlardır. Saptanan genlerin bulunma sıklıklarına göre sırasıyla; *bla*$_{CTX-M}$ Grup 1, *bla*$_{CIT}$, *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{CTX-M}$ Grup 8 ve *bla*$_{SHV}$ olduğunu belirlemişlerdir (Başaran ve ark. 2016). Ünal ve ark. ise 2017 yılında yaptıkları çalışmalarda yine broiler tavuklarından elde edilen *E. coli*'lerde *bla*$_{CTX-M-1}$, *bla*$_{CTX-M-3}$, *bla* $_{CTX-M-15}$, *bla*$_{CTX-M-16}$, *bla*$_{TEM-1}$, *bla*$_{SHV-12}$ ve *bla*$_{OXA-1}$ tipi beta laktamaz genlerini saptamışlardır. Yumurtacı tavuklarda yapılan çalışmalara bakıldığında, 2017 yılında yapılan 2 çalışmadan birisinde *bla*$_{CTX-M-3}$, *bla*$_{CTX-M-15}$ ve *bla*$_{TEM-1}$ tipi beta laktamaz genlerinin (Pehlivanoğlu ve ark. 2017), diğer çalışmada da AmpC tipi beta laktamaz genleri olan *bla*$_{CIT}$ grubu ve *bla*$_{MOX}$ grubu genlerin varlığı saptanmıştır (Pehlivanoğlu ve ark. 2017).

Pet hayvanlarındaki duruma baktığımızda, Kedi ve Köpek dışkılarından elde edilen *E. coli'*lerde *bla*$_{CTX-M-1}$, *bla*$_{CTX-M-9}$, *bla*$_{TEM}$ grubu, *bla*$_{SHV}$ grubu, *bla*$_{CIT}$ grubu ve $_{MOX}$ grubu beta laktamaz genlerinin saptandığı görülmektedir (Gümüş ve ark. 2017). Aslantaş ve ark. ise köpeklerden elde edilen *E. coli*'lerde *bla*$_{CTX-M-1}$, *bla*$_{CTX-M-3}$, *bla*$_{CTX-M-15}$, *bla*$_{TEM-1b}$, *bla*$_{SHV-12}$, *bla*$_{OXA-1}$ ve *bla*$_{CMY-2}$ genlerini saptamışlardır (Aslantaş ve ark. 2018). Kafes kuşlarında ise *bla*$_{CTX-M-15}$ geninin varlığı saptanmıştır (Sakin ve ark. 2018). Ayrıca 2016 yılında köpek idrarlarında yapılan bir çalışmada *Klebsiella pnemoniae* izolatlarından *bla*$_{SHV-11}$ ve *bla*$_{CTX-M-15}$

genlerinin varlığı saptanmıştır (Pehlivanoğlu 2016). GSBL ve/veya AmpC üreten izolatlarda Kahraman ve ark. (2016), Türkiye'de insan izolatlarında yapılan GSBL çalışmalarında *bla*$_{CTX-M}$'in en yaygın enzim grubu olduğu belirlenmiştir (Copur ve ark. 2013, Kahraman ve ark. 2016, Gümüş ve ark. 2017, Pehlivanoğlu 2019,).

Bu çalışmada Grup 1'de genotipik olarak GSBL (n=26) ve AmpC (n=6) enzim genleri saptanan E.coli izolat sayısı 32, genotipik direnç geni taşıyan hayvan sayısı 28 (23'ü Gümüş Martı, 4'ü küçük martı,1'i Gri balıkçıl) olarak olarak belirlenmiştir. Genlerin dağılımı blaCTX-$_M$ (n=25), *bla*$_{SHV}$ (n=1), *bla*$_{OXA10}$ (n=6), *bla*$_{MOX}$ (n=5), *bla*$_{CIT}$ (n=1) olarak belirlenmiş, 25 izolatta belirlenen *bla*$_{CTX-M}$'in 15 tanesinin *bla*$_{CTX-M-1}$grubunda olduğu da saptanmıştır. Saptanan genler tek grup gen olarak, GSBL grup genleri kombinasyonu ve GSBL - AmpC gruplarının kombinasyonu olarak görülmüştür. Bu grup içinde martılarda en yüksek oranda %39,7(27/68) GSBL ve/veya AmpC enzim genleri ve bir adet *bla*$_{CTX-M}$ geni dışında tüm gen ve grupları yine bu hayvanlarda belirlenmiştir. Martılarda en çok belirlenen gen *bla*$_{CTX-M}$ (n=24) olup, bu 24 izolatın 14 tanesinin *bla*$_{CTX-M-1}$ grubunda olduğu da saptanmıştır. Hiçbir izolatta *bla*$_{CTX-M-15}$ geni saptanmamıştır. Grup 2'de genotipik olarak GSBL (n=15) ve AmpC (n=1) enzim genleri saptanan izolatlarda ana ve alt grupların dağılımı *bla*$_{CTX-M}$ (n=15), *bla*$_{SHV}$ (n=1), *bla*$_{OXA10}$ (n=1), *bla*$_{MOX}$ (n=1) geni olarak saptanmış, bu grupta bir *E.coli* izolatında GSBL gruplarının (*bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{SHV}$ ve *bla*$_{OXA10}$), ve bir izolatın da GSBL ve AmpC enzim gen gruplarının (*bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{MOX}$) kombinasyonu belirlenmiştir. Hiçbir izolatta Avrupa ve Afrika kıtasında yaygın olan *bla*$_{CTX-M-15}$ geni saptanmamıştır. Elde edilen bulguların CTX-M ve CTX-M-1 yönününden literatürlere uyum gösterdiği, *bla*$_{CTX-M-15}$ saptanmaması nedeniyle de farklılık oluşturduğu belirlenmiştir.

Göçmen kuşlardaki direnç genleri ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda, İspanya Zaragoza Aragon vahşi yaşam rehabilitasyon merkezindeki tedavi altındaki 15 familyaya ait 100 kuşta yapılan çalışmada *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{SHV}$, *bla*$_{CTX-M}$ ve AmpC için *bla*$_{FOX}$, *bla*$_{MOX}$, *bla*$_{CIT}$, *bla*$_{DHA}$, *bla*$_{ACC}$, *bla*$_{EBC}$ ve *bla*$_{CMY}$ grup genlerine bakılmış, 16 tanesinin GSBL genleri yönünden pozitif olduğu saptanmıştır. 9 tane *bla*$_{SHV}$, 3 tane *bla*$_{CTX-M-1}$, 2 tane *bla*$_{CTX-M-14}$ saptanmıştır. 5 izolatta *bla*$_{TEM}$ grubu genlerin pozitif olduğu belirlenmiş, bir izolatın *bla*$_{TEM}$ geninin yanında, aynı zamanda *bla*$_{SHV}$ ve *bla*$_{CTX-M}$ genlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda bir izolatın da CMY genlerine sahip olduğu görülmüştür (Alcala L. 2016). Guenter ve ark. 2010, Almanya'da yaptıkları bir çalışmada ise 63 kuştan hiçbirisinde GSBL, AmpC ve Karbapenemaz genlerine rastlanmamışlardır. Rio de Janaryo Vahşi yaşam rehabilitasyon

merkezine tedavi amacıyla ulaştırılmış 199 predetör kuşlarla yapılan çalışmada, 14 kuşa ait (2 Tropik Çığlık Baykuşu, 2 Akbaba, 3 Şahin, 4 Caracara, 3 Mavi Kafalı Papağan) 41 E. coli izolatının GSBL ürettiği belirlenmiş ve tamamının *bla*$_{\text{CTX-M}}$ geni taşıdığı saptanmıştır. Ayrıca 2 izolatta *bla*$_{\text{CMY}}$ grubu AmpC direnci de saptanmıştır (De Jesus A. ve ark. 2019).

Tunus'ta hem yerleşik hem de göçmen kuşlarla yapılan bir çalışmada 111 örneğin 12 sinde fenotipik GSBL saptanmış, bu 12 izolata aynı zamanda genotipik olarak da GSBL genlerinin varlığı araştırılmıştır. *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{TEM}}$, *bla*$_{\text{OXA}}$, *bla*$_{\text{SHV}}$ ve *bla*$_{\text{CMY}}$ genlerinden sadece *bla*$_{\text{CTX-M}}$(*bla*$_{\text{CTX-M-15}}$) geni 12 izolatın tamamında saptanmıştır. (Ben Yahya ve ark. 2018). Almanya'da yapılan bir çalışmada 99 ötücü kuştan alınan dışkı örneklerinden 2 tanesinde (%2) *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$ tespit edilmiştir (Guenther S. 2010). 2017'de Pakistan'da yapılan bir çalışmada 150 göçmen kuşa ait dışkı örneklerinden 26 GSBL pozitif örnek genotipik olarak incelenmiş ve 26 adet *bla*$_{\text{CTX-M}}$ grubu saptanmıştır. Bu izolatların 24 tanesinde de *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$ geninin var olduğu belirlenmiştir. 19 izolatta *bla*$_{\text{TEM}}$, 2 izolatta ise hem *bla*$_{\text{TEM}}$ hem de *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$ geni saptanmıştır (Mohsin M. ve ark. 2017). Kanada ve Şili arasında sürekli göç eden Franklin Martıları ile 2015'te yapılan çalışmada, 400 kuş dışkısından 179 adet GSBL genotipik izolat tespit edilmiştir. Çalışmanın Kanada ayağında, 2 *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$, 18 *bla*$_{\text{CTX-M-14}}$, 6 *bla*$_{\text{CTX-M-14}}$ ve *bla*$_{\text{TEM}}$, 13 *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$, 3 *bla*$_{\text{CTX-M-15 ve}}$ *bla*$_{\text{TEM,}}$ 1 *bla*$_{\text{CTX-M-3}}$ ve 1 *bla*$_{\text{CTX-M-55}}$ tespit edilmiştir. Ayrıca 8 izolatta *bla*$_{\text{SVH}}$ varlığı saptanmıştır. Şili'de ise 101 izolatta *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$ varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca, 19 *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$ ve *bla*$_{\text{TEM}}$ geni birlikte, 2 *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$ ve *bla*$_{\text{SHV}}$ geni birlikte saptanmıştır. 4 adet saptanan *bla*$_{\text{CTX-M-9}}$'dan 2 tanesinde aynı zamanda *bla*$_{\text{TEM}}$ geni de mevcuttur. 1 izolattan ise sadece *bla*$_{\text{SHV}}$ geni saptanmıştır (Bonnedahl, J. ve ark., 2015).

Bu çalışmada kış göçmenlerini içeren grup 3'de genotipik olarak GSBL (n=7) enzim genleri saptanan izolatlarda dağılımın *bla*$_{\text{CTX-M}}$ (n=5), *bla*$_{\text{OXA10}}$ (n=2) geni olduğu saptanmıştır. Bu grupta kombine enzim geni ve AmpC enzim gen grupları saptanmamıştır. Yaz göçmenlerini içeren grup 4'de genotipik olarak GSBL (n=5) ve AmpC (n=1) enzim genleri saptanan izolatlarda ana ve alt grupların dağılımı *bla*$_{\text{CTX-M}}$ (n=5), *bla*$_{\text{OXA10}}$ (n=1), *bla*$_{\text{CIT}}$ (n=1) geni olarak belirlenmiştir. Bu grupta 2 *E.coli* izolatında, *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{OXA10}}$ ve *bla*$_{\text{CIT}}$ GSBL ve AmpC ve diğer izolatta *bla*$_{\text{CTX-M}}$, *bla*$_{\text{OXA10}}$ GSBL enzim gen gruplarının kombine olduğu görülmüştür. Bu gruplarda da izolatlarda Avrupa ve Afrika kıtasında yaygın olan *bla*$_{\text{CTX-M-15}}$ geni saptanmamıştır. Belli bir dönemi, birkaç ayı göçtükleri bölgede geçiren yabani kuş popülasyonlarında yerleşik yaşayan yabani kuşlara göre daha düşük oranda AMR dirençli *E. coli* saptanmış olması, bu hayvanların kontamine olanlarla daha az temasına bağlanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada Marmara bölgesinde yerleşik olarak bulunan veya göç yollarıyla bu bölgede belli bir dönem geçiren yabani kuşlarda GSBL ve/veya AmpC β-laktamaz üreten *E.coli* varlığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında insan ve hayvan hayatı ve bunların çeşitli atıklarıyla daha sık karşılaşan yerleşik yabani kuş populasyonunun GSBL ve/veya AmpC β-laktamaz üreten *E.coli* prevalansının daha yüksek olduğu görülmüştür. Antibiyotiklerle temas etmediğine inanılan yabani şehir kuşları genelde insanlarla ve hayvanlarla yakın temas halindedir. Kentsel alanlarda giderek artan oranda atık toplayan martılar, kargalar ve atıklarla ilişkisi olmasada temas halinde olan güvercinler bulaşıcı ajanların yayılmasına katkıda bulunabileceği, özellikle GSBL genlerinin de potansiyel kaynağı olabileceği saptanmıştır. Bilhassa güvercinlerin kentsel ortamda uzun mesafeler (günde 5 km'den fazla) uçabilmeleri, bu kuşun antimikrobiyal dirençli bakterilerin geniş bir alana yayılmasında epidemiyolojik önemini göstermiştir. Ayrıca çöplükler, yüksek insan yoğunluğu, kanalizasyon atıkları ve kirli suya sahip dinlenme alanlarının yakınında yuva yapan martıların, kirlenmemiş su ile ilişkili kuşlara oranla daha fazla antibiyotiğe dirençli *E.coli* barındırdığı saptanmış, buna bağlı olarak da bazı martı türlerinin şehirlerarası göç etmeleri nedeni ile dirençli bakterilerin taşıyıcıları veya rezervuarları olarak, etkenleri ekosistemler arasında yaymak için ideal bir ev sahibi konumunda olduğunu bununla birlikte AMR'nin insanlarda ve çiftlik hayvanlarında antibiyotik kullanımı ile katlanarak arttığı ve martıların insan, hayvan ve tarımsal atıklarla beslendiği göz önüne alındığında potansiyel antibiyotik direnci yayıcıları olarak da dikkate alınması gerektiğini düşündürmüştür.

KAYNAKLAR

Abraham, E. P., & Chain, E. (1940). An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature, 146(3713), 837-837.

Alcalá, L., Alonso, C. A., Simón, C., González-Esteban, C., Orós, J., Rezusta, A., Ortega, C., & Torres, C. (2016). Wild Birds, Frequent Carriers of Extended-Spectrum β-Lactamase (ESBL) Producing Escherichia coli of CTX-M and SHV-12 Types. *Microbial Ecology*, *72*(4), 861–869

Allen, H. K., Donato, J., Wang, H. H., Cloud-Hansen, K. A., Davies, J., & Handelsman, J. (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. Nature Reviews Microbiology, 8(4), 251–259.

Aminov, R. I., & Mackie, R. I. (2007). Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. FEMS microbiology letters, 271(2), 147-161.

Animal Health Institute. (2000). *Survey Indicates Most Antibiotics Used in Animals are Used for Treating and Preventing Disease*. Animal Health Institute Washington, DC, USA.

Arlet G., Rouvea M., Casin I., Bouvet P.J., Lagrange P.H., Philippon A. (1994). Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* strains that produce SHV-4 β-lactamase and which were isolated in 14 French hospitals. *J Clin Microbiol.* 32, 2553-8.

Arpin, C., Dubois, V., Maugein, J., Jullin, J., Dutilh, B., Brochet, J. P., ... & Quentin, C. (2005). Clinical and molecular analysis of extended-spectrum β-lactamase-producing enterobacteria in the community setting. Journal of clinical microbiology, 43(10), 5048-5054.

Ashford, W., Golash, R., & Hemming, V. (1976). Penicilunase-producing Neisseria gonorrhoeae. The Lancet, 308(7987), 657-658.

Aslantaş, Ö., & Gövce, N. (2018). Isolation and Molecular Characterization of ESBL/pAmpC Producing *Escherichia coli* in Household Pigeons in Turkey. Israel Journal of Veterinary Medicine, 73, 4.

Aslantaş, Ö., & Gövce, N. (2020). Investigation of antimicrobial resistance in pigeons (*Columba livia domestica*) using indicator bacteria. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 71(2), 2095-2106.

Aslantaş, Ö., Elmacıoğlu, S., & Yılmaz, E. Ş. (2017). Prevalence and characterization of ESBL- and AmpC-producing *Escherichia coli* from cattle. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 23, 63-67.

Asma, M., & Jasser, A. (2006). Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs): a global problem.

Atterby, C., Börjesson, S., Ny, S., Järhult, J. D., Byfors, S., & Bonnedahl, J. (2017). ESBL-producing Escherichia coli in Swedish gulls—A case of environmental pollution from humans? *PLOS ONE*, *12*(12),

Báez, J., Hernández-García, M., Guamparito, C., Díaz, S., Olave, A., Guerrero, K., Cantón, R., Baquero, F., Gahona, J., Valenzuela, N., del Campo, R., & Silva, J. (2015). Molecular Characterization and Genetic Diversity of ESBL-Producing Escherichia coli Colonizing the Migratory Franklin's Gulls (*Leucophaeus pipixcan*) in Antofagasta, North of Chile.

Bauernfeind A., Stemplinger I., Jungwirth R., Mangold P., Amann S., Akalin E. ve ark. (1996). Characterization of β-Lactamase gene blaPER-2, Which Encodes an Extended-Spectrum Class A β-Lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 40, 616-20.

Bauernfeind, A., Schweighart, S., & Chong, Y. (1989). Extended broad spectrum β-lactamase in Klebsiella pneumoniae including resistance to cephamycins. Infection, 17(5), 316-321.

Baym, M., Stone, L. K., & Kishony, R. (2016). Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance. *Science*, *351*(6268), aad3292.

ben Yahia, H., ben Sallem, R., Tayh, G., Klibi, N., ben Amor, I., Gharsa, H., Boudabbous, A., & ben Slama, K. (2018). Detection of CTX-M-15 harboring Escherichia coli isolated from wild birds in Tunisia. *BMC Microbiology*, *18*(1), 1–8.

Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., ... & Martinez, J. L. (2015). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. Nature reviews microbiology, 13(5), 310-317.

Bevan, E. R., Jones, A. M., & Hawkey, P. M. (2017). Global epidemiology of CTX-M β-lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. Journal of antimicrobial chemotherapy, 72(8), 2145-2155.

Bonardi, S., & Pitino, R. (2019). Carbapenemase-producing bacteria in food-producing animals, wildlife and environment: A challenge for human health. Italian journal of food safety, 8(2).

Bonnedahl, J., & Järhult, J. D. (2014). Antibiotic resistance in wild birds. Upsala Journal of Medical Sciences, 119(2), 113–116.

Bonnedahl, J., Drobni, M., Gauthier-Clerc, M., Hernandez, J., Granholm, S., Kayser, Y., Melhus, Å., Kahlmeter, G., Waldenström, J., Johansson, A., & Olsen, B. (2009). Dissemination of Escherichia coli with CTX-M Type ESBL between Humans and Yellow-Legged Gulls in the South of France. PLOS ONE, 4(6), e5958.

Bonnedahl, J., Drobni, P., Johansson, A., Hernandez, J., Melhus, Å., Stedt, J., ... & Drobni, M. (2010). Characterization, and comparison, of human clinical and black-headed gull (Larus ridibundus) extended-spectrum β-lactamase-producing bacterial isolates from Kalmar, on the southeast coast of Sweden. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 65(9), 1939-1944.

Bonnet, R. (2004). Growing group of extended-spectrum β-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrobial agents and chemotherapy, 48(1), 1-14.

Borges, C. A., Cardozo, M. v, Beraldo, L. G., Oliveira, E. S., Maluta, R. P., Barboza, K. B., Werther, K., & Ávila, F. A. (2017). Wild birds and urban pigeons as reservoirs for diarrheagenic Escherichia coli with zoonotic potential §. Journal of Microbiology, 55(5), 344–348. https://doi.org/10.1007/s12275-017-6523-3

Bradford, P. A. (2001). What's new in β-lactamases? Current Infectious Disease Reports, 3(1), 13-19.

Bush, K. (2013). Proliferation and significance of clinically relevant β-lactamases. Annals of the New York Academy of Sciences, 1277(1), 84-90.

Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β-Lactams and β-lactamase inhibitors: an overview. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 6(8), a025247.

Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *39*(6), 1211-1233.

Chanawong A., M'Zali F.H., Heritage J., Lulitanond A., Hawkey P.M. (2000). Characterisation of extended-spectrum β-lactamases of the SHV family using a combination of PCR-single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) and PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *FEMS Microbiol Lett.* 184(1), 85-9.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2021). M100-S23—Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; twenty-third informational supplement. CLSI, Wayne, Pennsylvania.

Copur Cicek, A., Saral, A., Ozad Duzgun, A. *et al.* Nationwide study of *Escherichia coli* producing extended-spectrum β-lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey. *J Antibiot* 66, 647–650 (2013). https://doi.org/10.1038/ja.2013.72

Copur Cicek, A., Saral, A., Ozad Duzgun, A., Yasar, E., Cizmeci, Z., Ozlem Balci, P., ... & Sandalli, C. (2013). Nationwide study of Escherichia coli producing extended-spectrum β-lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey. The Journal of antibiotics, 66(11), 647-650.

Costa, D., Poeta, P., Sáenz, Y., Vinué, L., Rojo-Bezares, B., Jouini, A., ... & Torres, C. (2006). Detection of Escherichia coli harbouring extended-spectrum β-lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 58(6), 1311-1312.

Cote, S., Harel, J., Higgins, R., & Jacques, M. (1991). Resistance to antimicrobial agents and prevalence of R plasmids in Pasteurella multocida from swine. American journal of veterinary research, 52(10), 1653-1657.

Cunha, M. P. V., Oliveira, M. C. V., Oliveira, M. G. X., Menão, M. C., & Knöbl, T. (2019). CTX-M-producing Escherichia coli Isolated from urban pigeons (Columba livia

domestica) in Brazil. The Journal of Infection in Developing Countries, 13(11), 1052–1056.

Dallenne, C., Da Costa, A., Decré, D., Favier, C., & Arlet, G. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β-lactamases in Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 65(3), 490-495.

Datta, N., & Kontomichalou, P. (1965). Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. Nature, 208, 239-41.

Davies, J. (2007). Microbes have the last word: A drastic re-evaluation of antimicrobial treatment is needed to overcome the threat of antibiotic-resistant bacteria. EMBO reports, 8(7), 616-621.

de Jesus, A. A. B., Freitas, A. A. R., de Souza, J. C., Martins, N., Botelho, L. A. B., Girão, V. B. C., Teixeira, L. M., Riley, L. W., & Moreira, B. M. (2019). High-Level Multidrug-Resistant Escherichia coli Isolates from Wild Birds in a Large Urban Environment.

Dolejska, M., & Literak, I. (2019). Wildlife is overlooked in the epidemiology of medically important antibiotic-resistant bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 63(8), e01167-19.

Done, H. Y., Venkatesan, A. K., & Halden, R. U. (2015). Does the recent growth of aquaculture create antibiotic resistance threats different from those associated with land animal production in agriculture? The AAPS journal, 17(3), 513-524.

Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. (2010). Three decades of β-lactamase inhibitors. *Clinical microbiology reviews, 23*(1), 160-201.

EFSA (European Food Safety Authority). (2011). Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β-lactamases and/or AmpC β-lactamases in food and food-producing animals. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *EFSA Journal*. 9(8), 2322,1-95.

Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. Perspectives in medicinal chemistry, 6, PMC-S14459.

FAO (Food and Agriculture Organisation for United Nations) (2012) The State of World Fisheries and Aquaculture Report.

Fashae, K., Engelmann, I., Monecke, S., Braun, S. D., & Ehricht, R. (2021). Molecular characterisation of extended-spectrum ß-lactamase producing Escherichia coli in wild birds and cattle, Ibadan, Nigeria. BMC Veterinary Research, 17(1), 1-12.

Garmyn, A., Haesebrouck, F., Hellebuyck, T., Smet, A., Pasmans, F., Butaye, P., & Martel, A. (2011). Presence of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli in wild geese. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 66(7), 1643-1644.

Giguère, S., Prescott, J. F., & Dowling, P. M. (Eds.). (2013). Antimicrobial therapy in veterinary medicine. John Wiley & Sons.

Guenther, S., Ewers, C., & Wieler, L. H. (2011). Extended-spectrum beta-lactamases producing E. coli in wildlife, yet another form of environmental pollution? Frontiers in Microbiology, 2, 246.

Guenther, S., Grobbel, M., Beutlich, J., Bethe, A., Friedrich, N. D., Goedecke, A., Lübke-Becker, A., Guerra, B., Wieler, L. H., & Ewers, C. (2010). CTX-M-15-type extended-spectrum beta-lactamases-producing Escherichia coli from wild birds in Germany. *Environmental Microbiology Reports*, *2*(5), 641–645.

Gumus, B., Celik, B., Kahraman, B. B., Sigirci, B. D., & Ak, S. (2017). Determination of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and AmpC beta-lactamase producing Escherichia coli prevalence in faecal samples of healthy dogs and cats. Revue De Medecine Veterinaire, 168(1/3), 46-52.

Hasan, B., Islam, K., Ahsan, M., Hossain, Z., Rashid, M., Talukder, B., ... & Kashem, M. A. (2014). Fecal carriage of multi-drug resistant and extended spectrum β-lactamases producing E. coli in household pigeons, Bangladesh. Veterinary microbiology, 168(1), 221-224.

Hernandez, J., Bonnedahl, J., Eliasson, I., Wallensten, A., Comstedt, P., Johansson, A., ... & Drobni, M. (2010). Globally disseminated human pathogenic Escherichia coli of O25b-ST131 clone, harbouring blaCTX-M-15, found in Glaucous-winged gull at remote Commander Islands, Russia. Environmental microbiology reports, 2(2), 329-332.

Hubálek, Z. (2004). An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. Journal of wildlife diseases, 40(4), 639-659.

Hughes, V. M., & Datta, N. (1983). Conjugative plasmids in bacteria of the 'pre-antibiotic'era. Nature, 302(5910), 725-726.

Ibrahim, M. E., Abbas, M., Al-Shahrai, A. M., & Elamin, B. K. (2019). Phenotypic characterization and antibiotic resistance patterns of extended-spectrum β-Lactamase-and AmpC β-lactamase-producing Gram-negative bacteria in a referral hospital, Saudi Arabia. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 2019.

Iredell, J., Brown, J., & Tagg, K. (2016). Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. Bmj, 352.).

Islam, M. S., Sobur, M. A., Rahman, S., Ballah, F. M., Ievy, S., Siddique, M. P., Rahman, M., Kafi, M. A., & Rahman, M. T. (2021). Detection of blaTEM, blaCTX-M, blaCMY, and blaSHV Genes Among Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli Isolated from Migratory Birds Travelling to Bangladesh. Microbial Ecology, 1, 1–9.

Jacoby, G. A. (2009). AmpC β-lactamases. *Clinical microbiology reviews*, *22*(1), 161-182.

KAHRAMAN, B. B., SIĞIRCI, B. D., & Celik, B. (2016). Detection of extended-spectrum β-lactamase and AmpC β-lactamase producing Escherichia coli isolates from chickens. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg, 22, 591-6.

Kanai, H., Hashimoto, H., & MITSUHASHI, S. (1981). Drug-resistance and conjugative R plasmids in Escherichia coli strains isolated from wild birds (Japanese tree sparrows, green pheasants and bamboo partridges). Japanese poultry science, 18(4), 234-239.

Kanj, S. S., & Kanafani, Z. A. (2011, March). Current concepts in antimicrobial therapy against resistant gram-negative organisms: extended-spectrum β-lactamase–producing enterobacteriaceae, carbapenem-resistant enterobacteriaceae, and multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. In Mayo Clinic Proceedings (Vol. 86, No. 3, pp. 250-259). Elsevier.

Karkman, A., Pärnänen, K., & Larsson, D. G. (2019). Fecal pollution can explain antibiotic resistance gene abundances in anthropogenically impacted environments. Nature communications, 10(1), 1-8.

Kitzis, M. D., Billot-Klein, D., Goldstein, F. W., Williamson, R., Tran Van Nhieu, G., Carlet, J., ... & Gutmann, L. (1988). Dissemination of the novel plasmid-mediated beta-lactamase CTX-1, which confers resistance to broad-spectrum cephalosporins, and its inhibition by beta-lactamase inhibitors. Antimicrobial agents and chemotherapy, 32(1), 9-14.

Kiziroğlu, İ., (2008). Türkiye Kuşları Kırmızı Listesi. Ankara: Desen Matbaa

Koch, B. J., Hungate, B. A., & Price, L. B. (2017). Food-animal production and the spread of antibiotic resistance: the role of ecology. Frontiers in Ecology and the Environment, 15(6), 309-318.

Kucukbasmaci, K., Cifcioglu, G., Midilli, K., & Issa, G. (2008). Detection of extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae from food animals in Turkey. REVUE DE MEDECINE VETERINAIRE, 159(12).

Lathers, C. M. (2001). Role of veterinary medicine in public health: antibiotic use in food animals and humans and the effect on evolution of antibacterial resistance. The Journal of Clinical Pharmacology, 41(6), 595-599.

Lathers, C. M. (2001). Role of veterinary medicine in public health: antibiotic use in food animals and humans and the effect on evolution of antibacterial resistance. The Journal of Clinical Pharmacology, 41(6), 595-599.

Laupland, K. B., & Church, D. L. (2014). Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. Clinical microbiology reviews, 27(4), 647-664.

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

Lee, S. (2021). The Nightingale:'The nature book of the year'. Random House.

Levin, B. R., Perrot, V. & Walker, N. (2000) Compensatory mutations, antibiotic resistance and the population genetics of adaptive evolution in bacteria. Genetics 154, 985–997.

Literak, I., Dolejska, M., Janoszowska, D., Hrusakova, J., Meissner, W., Rzyska, H., ... & Cizek, A. (2010). Antibiotic-resistant Escherichia coli bacteria, including strains with genes encoding the extended-spectrum beta-lactamase and QnrS, in waterbirds on the Baltic Sea Coast of Poland. Applied and environmental microbiology, 76(24), 8126-8134.

Literak, I., Vanko, R., Dolejska, M., Čížek, A., & Karpíšková, R. (2007). Antibiotic resistant Escherichia coli and Salmonella in Russian rooks (Corvus frugilegus) wintering in the Czech Republic. Letters in Applied Microbiology, 45(6), 616-621.

Livermore, D. M. (1995). beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical microbiology reviews*, *8*(4), 557-584.

Louie, J. P., & Bell, L. M. (2002). Appropriate use of antibiotics for common infections in an era of increasing resistance. *Emergency Medicine Clinics*, *20*(1), 69-91.

Manyahi, J., Moyo, S. J., Tellevik, M. G., Ndugulile, F., Urassa, W., Blomberg, B., & Langeland, N. (2017). Detection of CTX-M-15 beta-lactamases in Enterobacteriaceae causing hospital-and community-acquired urinary tract infections as early as 2004, in Dar es Salaam, Tanzania. *BMC infectious diseases*, *17*(1), 1-7.

Martinez, J. L. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. Environmental Pollution, 157(11), 2893–2902.

Mellon, M., Benbrook, C., & Benbrook, K. L. (2001). Hogging it. Estimates of antimicrobial abuse in livestock, 7-9.

Mohsin, M., Raza, S., Wang, J., Ma, Z. B., Zeng, Z. L., Yang, X. W., ... & Liu, J. H. (2017). Comment on “The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes”/Response to Comment on “The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes”. Zoological Research, 38(4), 211.

Moreau, R. E. (1972). Palaearctic-African bird migration systems.

Morgan, D. J., Okeke, I. N., Laxminarayan, R., Perencevich, E. N., & Weisenberg, S. (2011). Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review. The Lancet infectious diseases, 11(9), 692-701.

Mukerji, S., Sahibzada, S., Abraham, R., Stegger, M., Jordan, D., Hampson, D. J., ... & Abraham, S. (2021). Proximity to human settlement is directly related to carriage of critically important antimicrobial-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Silver Gulls. bioRxiv.

Murk, J. L. A., Hess, D. L., Vandenbroucke-Grauls, C. M., Debets-Ossenkopp, Y. J., Heddema, E. R., & Bogaards, J. A. (2009). Enrichment Broth and Detection of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-Producing Bacteria in Throat and Rectal Surveillance Cultures of Intensive Care Unit Patients Reply. Journal of Clinical Microbiology, 47(9), 3066-3067.

Nelson, M., Jones, S. H., Edwards, C., & Ellis, J. C. (2008). Characterization of Escherichia coli populations from gulls, landfill trash, and wastewater using ribotyping. Diseases of aquatic organisms, 81(1), 53-63.

Ngaiganam, E. P., Pagnier, I., Chaalal, W., Leangapichart, T., Chabou, S., Rolain, J. M., & Diene, S. M. (2019). Investigation of urban birds as source of β-lactamase-producing Gram-negative bacteria in Marseille city, France. Acta Veterinaria Scandinavica, 61(1)

Noble, W. C., Zarina Virani, and Rosemary GA Cree. "Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from Enterococcus faecalis NCTC 12201 to Staphylococcus aureus." FEMS microbiology letters 93.2 (1992): 195-198.

Nordmann, P. (1998). Trends in β-lactam resistance among Enterobacteriaceae. Clinical infectious diseases, 27(Supplement_1), S100-S106.

Nordmann, P., Poirel, L., & Dortet, L. (2012). Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerging infectious diseases, 18(9), 1503.

Oteo, J., Mencia, A., Bautista, V., Pastor, N., Lara, N., Gonzalez-Gonzalez, F., ... & Campos, J. (2018). Colonization with Enterobacteriaceae-producing ESBLs, AmpCs, and OXA-48 in wild avian species, Spain 2015–2016. Microbial Drug Resistance, 24(7), 932-938.

Overdevest, I., Willemsen, I., Rijnsburger, M., Eustace, A., Xu, L., Hawkey, P., ... & Kluytmans, J. (2011). Extended-spectrum β-lactamase genes of Escherichia coli in chicken meat and humans, The Netherlands. Emerging infectious diseases, 17(7), 1216.

Özbahar, İ. ve Gül, R. (2011). Hatay-Ziyaret Tepesi Rüzgâr Santralleri Bölgesinin Ornitolojik Değerlendirilmesi. 45.

Page, S. W., & Gautier, P. (2012). Use of antimicrobial agents in livestock. Revue Scientifique et Technique-OIE, 31(1), 145.

Pandey N, Cascella M. Beta Lactam Antibiotics. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. PMID: 31424895.

Parker, D., Sniatynski, M. K., Mandrusiak, D., & Rubin, J. E. (2016). Extended-spectrum β-lactamase producing Escherichia coli isolated from wild birds in Saskatoon, Canada. Letters in Applied Microbiology, 63(1), 11-15.

Pazda, M., Kumirska, J., Stepnowski, P., & Mulkiewicz, E. (2019). Antibiotic resistance genes identified in wastewater treatment plant systems–a review. Science of the Total Environment, 697, 134023.

Pehlivanoglu, F., Turutoglu, H., Ozturk, D., & Yardimci, H. (2016). Molecular characterization of ESBL-producing Escherichia coli isolated from healthy cattle and sheep. Acta Veterinaria, 66(4), 520-533.

PEHLİVANOĞLU, F. (2019). Gram Negatif Bakterilerin Beta-Laktamaz Enzim Çeşitliliği ve Türkiye'deki Hayvan Orjinli Bakterilerdeki Durum. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 33(2), 113-122.

PEHLİVANOĞLU, F., TÜRÜTOĞLU, H., ÖZTÜRK, D., & Yardimci, H. (2017). Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing fecal *Escherichia coli* isolates in laying hens. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 64(4), 301-306.

Pérez-Pérez F.J., Hanson N.D. (2002). Detection of plasmid-mediated AmpC β-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 40(6)**,** 2153-62.

Peterson, E., & Kaur, P. (2018). Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. Frontiers in microbiology, 9, 2928.

Pinto, L., Poeta, P., Vieira, S., Caleja, C., Radhouani, H., Carvalho, C., ... & Igrejas, G. (2010). Genomic and proteomic evaluation of antibiotic resistance in Salmonella strains. Journal of proteomics, 73(8), 1535-1541.

Pitout, J. D. D., & Laupland, K. B. (2008). Extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. The Lancet Infectious Diseases, 8(3), 159–166.

Poeta, P., Radhouani, H., Igrejas, G., Gonçalves, A., Carvalho, C., Rodrigues, J., Vinué, L., Somalo, S., & Torres, C. (2008). Seagulls of the Berlengas natural reserve of Portugal as carriers of fecal Escherichia coli harboring CTX-M and TEM extended-spectrum beta-lactamases. Applied and Environmental Microbiology, 74(23), 7439–7441.

Poirel, L., Bonnin, R. A., & Nordmann, P. (2012). Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum β-lactamases in Gram-negative rods. Infection, Genetics and Evolution, 12(5), 883-893.

Probst-Kepper, M., & Geginat, G. (2018). New antibiotics for treatment of highly resistant Gram-negative bacteria. Anasthesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie: AINS, 53(7-08), 529-542.

Quinn P.J., Carter M.E., Markey B.K., Carter G.R. (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby-Year Book Europe, London, 221.

Radhouani, H., Poeta, P., Goncalves, A., Pacheco, R., Sargo, R., & Igrejas, G. (2012). Wild birds as biological indicators of environmental pollution: antimicrobial resistance patterns of Escherichia coli and enterococci isolated from common buzzards (Buteo buteo). Journal of medical microbiology, 61(6), 837-843.

Reed, K. D., Meece, J. K., Henkel, J. S., & Shukla, S. K. (2003). Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile virus, Lyme disease, influenza A and enteropathogens. Clinical medicine & research, 1(1), 5-12.

Rolain, J. M., Canton, R., & Cornaglia, G. (2012). Emergence of antibiotic resistance: need for a new paradigm. Clinical Microbiology and Infection, 18(7), 615-616.

Rossolini, G. M., Arena, F., Pecile, P., & Pollini, S. (2014). Update on the antibiotic resistance crisis. Current opinion in pharmacology, 18, 56-60.

Round, J. L., & Mazmanian, S. K. (2009). The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. Nature reviews immunology, 9(5), 313-323.

Rozwandowicz, M., Brouwer, M. S. M., Fischer, J., Wagenaar, J. A., Gonzalez-Zorn, B., Guerra, B., ... & Hordijk, J. (2018). Plasmids carrying antimicrobial resistance genes in Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 73(5), 1121-1137.

Saha, R., Jain, S., & Kaur, I. R. (2010). Metallo beta-lactamase producing pseudomonas species--a major cause of concern among hospital associated urinary tract infection. Journal of the Indian Medical Association, 108(6), 344-348.

Saha, R., Jain, S., & Kaur, I. R. (2010). Metallo beta-lactamase producing pseudomonas species--a major cause of concern among hospital associated urinary tract infection. Journal of the Indian Medical Association, 108(6), 344-348.

Sakin, F., Müjde, C., & Aslantaş, Ö. (2018). Isolation and molecular characterization of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* from cage birds in Adana region, Turkey. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 24(4).

Saladin M., Cao V.T., Lambert T., Donay J.L., Herrmann J.L., Ould-Hocine Z. ve ark. (2002). Diversity of CTX-M β-lactamases and their promoter regions from *Enterobacteriaceae* isolated in three Parisian hospitals. *FEMS Microbiol Lett.* **209(2),** 161-8.

Sarmah, A. K., Meyer, M. T., & Boxall, A. B. (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. Chemosphere, 65(5), 725-759.

Sato, G., Oka, C., Asagi, M., & Ishiguro, N. (1978). Detection of conjugative R plasmids conferring chloramphenicol resistance in Escherichia coli isolated from domestic and feral pigeons and crows. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde,

Infektionskrankheiten und Hygiene. Erste Abteilung Originale. Reihe A: Medizinische Mikrobiologie und Parasitologie, 241(4), 407-417.

Serrano, P. H. (2005). Responsible use of antibiotics in aquaculture (Vol. 469). Food & Agriculture Org.

Shao, Y., Wang, Y., Yuan, Y., & Xie, Y. (2021). A systematic review on antibiotics misuse in livestock and aquaculture and regulation implications in China. Science of The Total Environment, 798, 149205.

Simões, R. R., Poirel, L., Da Costa, P. M., & Nordmann, P. (2010). Seagulls and beaches as reservoirs for multidrug-resistant Escherichia coli. Emerging infectious diseases, 16(1), 110.

Sjölund, M., Bonnedahl, J., Hernandez, J., Bengtsson, S., Cederbrant, G., Pinhassi, J., ... & Olsen, B. (2008). Dissemination of multidrug-resistant bacteria into the Arctic. Emerging infectious diseases, 14(1), 70.

Skurnik, D., Ruimy, R., Andremont, A., Amorin, C., Rouquet, P., Picard, B., & Denamur, E. (2006). Effect of human vicinity on antimicrobial resistance and integrons in animal faecal Escherichia coli. Journal of Antimicrobial chemotherapy, 57(6), 1215-1219.

Smith, D. L., Harris, A. D., Johnson, J. A., Silbergeld, E. K., & Morris Jr, J. G. (2002). Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99(9), 6434-6439.

Smith, R. D., & Coast, J. (2002). Antimicrobial resistance: a global response. Bulletin of the World Health Organization, 80, 126-133.

Stedt, J., Bonnedahl, J., Hernandez, J., Waldenström, J., McMahon, B. J., Tolf, C., Olsen, B., & Drobni, M. (2015). Carriage of CTX-M type extended spectrum β-lactamases (ESBLs) in gulls across Europe. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *57*(1), 1–8

Terrill, S. B., & Able, K. P. (1988). Bird migration terminology. The Auk, 105(1), 205-206.

Toprak, E., Veres, A., Michel, J. B., Chait, R., Hartl, D. L., & Kishony, R. (2012). Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug selection. Nature genetics, 44(1), 101-105.

Tsubokura, M., Matsumoto, A., Otsuki, K., Animas, S. B., & Sanekata, T. (1995). Drug resistance and conjugative R plasmids in Escherichia coli strains isolated from migratory waterfowl. Journal of wildlife diseases, 31(3), 352-357.

ÜNAL, N., KARAGÖZ, A., AŞKAR, Ş., Dilik, Z., & Yurteri, B. (2017). Extended-spectrum Î²-lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in healthy broilers in Turkey. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 41(1), 72-76.

Vahaboglu H., Ozturk R., Akbal H., Saribas S., Tansel O., Coskunkan F. (1998). Practical approach for detection and identification of OXA-10-derived ceftazidime-hydrolyzing extended-spectrum β-lactamases. J Clin Microbiol. 36(3), 827-9.

Veldman, K., van Tulden, P., Kant, A., Testerink, J., & Mevius, D. (2013). Characteristics of cefotaxime-resistant *Escherichia coli* from wild birds in The Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, *79*(24), 7556–7561.

Voets, G. M., Fluit, A. C., Scharringa, J., Stuart, J. C., & Leverstein-van Hall, M. A. (2011). A set of multiplex PCRs for genotypic detection of extended-spectrum β-lactamases, carbapenemases, plasmid-mediated AmpC β-lactamases and OXA β-lactamases. International journal of antimicrobial agents, 37(4), 356-359.

Von Wintersdorff, C. J., Penders, J., Van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., Van Alphen, L. B., ... & Wolffs, P. F. (2016). Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. *Frontiers in microbiology*, *7*, 173.

Wallensten, A., Hernandez, J., Ardiles, K., Gonzalez-Acuna, D., Drobni, M., & Olsen, B. (2011). Extended spectrum beta-lactamases detected in *Escherichia coli* from gulls in Stockholm, Sweden. Infection ecology & epidemiology, 1(1), 7030.

Wang, J., Ma, Z.-B., Zeng, Z.-L., Yang, X.-W., Huang, Y., & Liu, J.-H. (2017). The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes. Zoological Research, 38(2), 55.

Watts, N., Adger, W. N., Agnolucci, P., Blackstock, J., Byass, P., Cai, W., Chaytor, S., Colbourn, T., Collins, M., & Cooper, A. (2015). Health and climate change: policy responses to protect public health. The Lancet, 386(10006), 1861–1914.

Wellington, E. M., Boxall, A. B., Cross, P., Feil, E. J., Gaze, W. H., Hawkey, P. M., ... & Williams, A. P. (2013). The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. The Lancet infectious diseases, 13(2), 155-165.

Woodford N., Fagan E.J., Ellington M.J. (2006). Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum β-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. **57(1),** 154-5.

Wright, G. D., & Poinar, H. (2012). Antibiotic resistance is ancient: implications for drug discovery. Trends in microbiology, 20(4), 157-159.

Yang, Y., Song, W., Lin, H., Wang, W., Du, L., & Xing, W. (2018). Antibiotics and antibiotic resistance genes in global lakes: a review and meta-analysis. Environment international, 116, 60-73.).

YILDIRIM, D., & PEHLİVANOĞLU, F. Buzağıların Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üreten *Escherichia coli* Taşıyıcılığı.

Zaman, S. B., Hussain, M. A., Nye, R., Mehta, V., Mamun, K. T., & Hossain, N. (2017). A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing. Cureus, 9(6).

Zhao, Y., Yang, Q. E., Zhou, X., Wang, F. H., Muurinen, J., Virta, M. P., ... & Zhu, Y. G. (2021). Antibiotic resistome in the livestock and aquaculture industries: Status and solutions. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 51(19), 2159-2196.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

VAHŞİ KUŞ DIŞKILARINDAN İZOLE EDİLEN Escherichia coli İZOLATLARINDA BETA LAKTAM DİRENÇ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

ORİJİNALLİK RAPORU

%10	%8	%5	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	%1
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	%1
3	tmc.dergisi.org İnternet Kaynağı	<%1
4	uu.diva-portal.org İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Suleyman Demirel University Öğrenci Ödevi	<%1
6	vetdergi.kafkas.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	DİREKEL, Şahin, ÇİÇEK ÇOPUR, Ayşegül, KARAGÖZ, Alper, EJDER AYDOĞAN, Nebahat, OKTAY, Efdal, DELİALİOĞLU, Nuran, ÖZGÜMÜŞ, Osman Birol and DURMAZ, Rıza. "Bir Üniversite Hastanesinde İzole Edilen Çok	<%1