

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

**İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN
ESCHERİCHİA COLİ SUŞLARINDA P FİMBRİA VARLIĞI
VE ANTİBAKTERİYELLERE KARŞI
DUYARLILIKLARININ İNCELENMESİ**

**EMEL İNEGÖL PAYKOÇ
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-15002 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Emel İNEGÖL PAYKOÇ tarafından hazırlanan “İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLI* SUŞLARINDA P FİMBRİA VARLIĞI VE ANTİBAKTERİYELLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ İNCELENMESİ” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/11/2016

Üye	: Prof. Dr. Şükrü KIRKAN	ADÜ
Üye	: Prof. Dr. Yahya KUYUCUOĞLU	AKÜ
Üye(Tez Danışmanı):	Prof. Dr. Süheyla TÜRKİYILMAZ	ADÜ
Üye	: Doç. Dr. Serap SAVAŞAN	ADÜ
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Fulya OCAK	MCBÜ



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

(İMZA)

(Ünvanı, Adı Soyadı)

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca beni sürekli yönlendiren, her konuda desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ'a, çalışmam esnasında katkılarını gördüğüm Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli öğretim üyelerine, materyal toplamamda destek olan Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli öğretim üyelerine, teknisyen arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan aileme ve çok değerli eşime teşekkürler ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Üriner Sistem Enfeksiyon Etkeni <i>E. coli</i>	4
2.1.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri	5
2.1.2. Üreme Özellikleri	6
2.1.3. Biyokimyasal Özellikleri	6
2.2. Direnç	7
2.3. <i>E. coli</i> 'nin Antijenik Yapısı	7
2.4. Virulans Faktörleri	8
2.4.1 Adezinler	9
2.4.1.1. Mannoz Duyarlı Fimbria: Tip 1 Fimbria.	12
2.4.1.2. P Fimbria	13
2.4.1.3. S Fimbria	16
2.4.1.4. Dr Fimbria	16
2.4.2. Ekzotoksiler	17
2.4.3. Siderofor	17
2.4.4. Hemolizin	17
2.4.5. Sitotoksik Nekrotizan Faktör	18
2.4.6. Serum Direnci.....	18
2.4.7. Kapsül	18
2.5. <i>E. coli</i> 'nin Yol Açtığı Enfeksiyonlar	19
2.5.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları	20

2.6. E. coli Enfeksiyonlarında Kullanılan Antimikrobiyaller	21
2.6.1. Beta Laktamlar ve Etki Mekanizması	22
2.6.2. Aminoglikozidler ve Etki Mekanizması.....	23
2.6.3. Kinolonlar ve Etki Mekanizması.....	24
2.6.4. Sulfonomidler ve Trimetoprimin Etki Mekanizması	25
2.7. Gram Negatif Bakterilerde Beta-Laktam Direnci	25
2.7.1. Plazmid Aracılı Beta-Laktamazlar	27
2.7.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar.....	27
2.7.3. Sık Rastlanılan Genişlemiş Spektrumlu Beta- Laktamazlar.....	28
2.8. GSBL'lerin Laboratuvarda Saptanması.....	31
2.9. GSBL Sentezleyen Bakterilerin Klinikte Neden Olduğu Sorunlar	35
2.9.1. Direnç	35
2.9.2. Hastaların Kolonizasyonu.....	35
2.9.3. Laboratuvarda GSBL Saptanmasında Zorluklar	36
2.10. Enfeksiyon Tedavisi	36
3. GEREÇ ve YÖNTEM	39
3.1. Gereç.....	39
3.1.1. İzolasyon Örnekleri	39
3.1.2. Besiyerleri.....	39
3.1.3. Ayıraçlar	42
3.1.4. Boyalar	43
3.1.5. Antibiyotik Diskleri.....	43
3.1.6. PZR'da Kullanılan Solusyonlar.....	44
3.1.7. Standart Suşlar	44
3.1.8. Primerler	45
3.1.9. Kullanılan Cihazlar.....	45
3.1.10. Agaro Jel.....	46
3.1.11. Marker	46
3.1.12. Etidium Bromür.....	46
3.2. Yöntem	47
3.2.1. E. coli'nin İzolasyonu	47
3.2.1.1. Örneklerin Alınması	47
3.2.1.2. E. coli'nin Fenotipik Tanımlanması	47
3.2.1.3. E. coli'nin Genotipik Tanımlanması	49

3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testinin Yapılışı ve Değerlendirilmesi	52
3.2.3. GSBL'nin Fenotipik Araştırılması	53
3.2.3.1. Disk Difüzyon Testi ile Tarama	53
3.2.3.2. Çift Disk Sinerji Testi ile Doğrulama	53
3.2.4. GSBL Enzim Tiplerinin PZR İle İncelenmesi	54
3.2.5. P Fimbria Genlerinin PZR İle İncelenmesi	54
3.2.6. Amplikonların Elektroforez Tankına Yüklenmesi	55
3.2.7. Görüntüleme ve Değerlendirme	55
3.2.8. Sekans Analizi	55
3.2.10. İstatistiksel Analiz	56
4. BULGULAR	57
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları	57
4.1.1. Fenotipik	57
4.1.2. Genotipik	57
4.2. Demografik Bulgular	58
4.3. Antibiyotik Dirençlilik Bulguları	58
4.3.1. Çift Disk Sinerji Testi Bulguları	60
4.3.2. GSBL Üreten ve Üretmeyen E. coli İzolatları Arasındaki Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Karşılaştırılması	58
4.4. Moleküler Bulgular	63
4.4.1. GSBL Enzim Tiplerinin PZR İle Analizi	63
4.4.2. E. coli P Fimbria Adezin Genlerinin Analizi	64
4.5. İstatistiksel Analiz	68
4. 5.1. GSBL Üreten ve Üretmeyen İzolatlarda Antibiyotik Duyarlılık ve Dirençlilik Durumlarının Karşılaştırılması	68
4.5.2. P Fimbria Taşıyan ve Taşımayan İzolatlarda Antibiyotik Duyarlılık ve Dirençlilik Durumlarının Karşılaştırılması	68
5. TARTIŞMA	70
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	80
KAYNAKLAR	82
ÖZGEÇMİŞ	92

SİMGELELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AIEC:	Aderantinvaziv <i>E. coli</i>
AMC:	Amoksisillin/Klavulonik asit
APEC:	Kanatlı Patojenik <i>E. coli</i>
ATM:	Aztreonamın
C:	Sitrat
CAZ:	Seftazidim
CRO:	Seftriakson
CLSI:	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CTX:	Sefotaksim
ÇDST:	Çift Disk Sinerji Testi
CNF:	Sitotoksik Nekrotizan Faktör
DAEC:	Diffuzaderant <i>E. coli</i>
DDT:	Disk Difüzyon Yöntemi
DEC:	Diyarejenik <i>E. coli</i>
EAEC:	Enteroagregatif <i>E. coli</i>
EHEC:	Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EPEC:	Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC:	Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
EIEC:	Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EMB:	Eosin-Metilen Blue Agar
EnPEC:	Endometrial Patojenik <i>E. coli</i>
ExPEC:	Ekstraintestinal Patojenik
GSBL:	Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar
GSL:	Globoseri Glikolipidler
I:	İndol
İYE:	İdrar Yolu Enfeksiyonu
MD:	Mannoza Dirençli
MHA:	Mueller-Hinton Agar
MIK:	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
MPEC:	Meme Patojenik <i>E. coli</i>
MR:	Metil Red

MRHA: Mannoza Dirençli Hemaglutinasyon

MS: Mannoza Duyarlı

MSHA: Mannoza Duyarlı Hemaglutinasyon

NAG: N-asetilglukozamin

NAM: N-asetilmuramik asit

NB: Nutrient Broth

NMEC: Yenidoğan Menejitisi ile ilgili *E. coli*

PAP: Piyelonefrit ile ilişkili Pilus

PMN: Parçalı Çekirdekli Nötrofil

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

R: Rough

S: Smooth

SePEC: Sepsisle ilgili Patojenik *E. coli*

STEAEC: Shigatoksijenik Enteroagregatif *E. coli*

SIgA: Salgısal Ig A

STX: Trimetoprim/sülfametoksazol

TSI: Triple Sugar Iron Agar

UPEC: Üropatojen *Escherichia coli*

USP: Üniversal Stres Proteini

USPA: Üniversal Stres Protein Geni

ÜSE: Üriner Sistem Enfeksiyonu

VP: Voges Proskauer

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. a) <i>E. coli</i> grupları ve ilişki patotipleri b) Patojenik <i>E. coli</i> 'lerin patotip ve alttipleri	3
Şekil 2. <i>E. coli</i> 'nin kapsülün yapısı yapısı	19
Şekil 3. Sekans analizinin yapılışı	56
Şekil 4. İzolatların antibiyotik dirençlilik oranları	59
Şekil 5. GSBL üreten ve üretmeyen <i>E. coli</i> izolatların antimikrobiyal direnç oranlarının karşılaştırılması	62
Şekil 6. <i>E. coli</i> izolatlarında papA ve papG bulunma oranları.....	65
Şekil 7. <i>E. coli</i> izolatlarında papG allellerinin dağılımı	66

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Çift disk sinerji yöntemi.....	32
Resim 2. <i>E. coli</i> izolatının EMB agardaki görünümü.....	48
Resim 3. <i>E. coli</i> ATCC 25922 suşunun EMB ve kanlı agardaki görünümü.....	57
Resim 4. <i>E. coli</i> izolatlarının jel elektroforez görüntüleri.....	58
Resim 5. GSBL pozitif izolatların jel elektroforez görüntüleri.....	63
Resim 6. <i>bla</i> TEM geni sekans analizi	64
Resim 7. <i>bla</i> CTX-M geni sekans analizi.....	64
Resim 8. <i>bla</i> OXA geni sekans analizi.....	64
Resim 9. <i>bla</i> SHV geni sekans analizi.....	64
Resim 10. <i>pap</i> genlerinin jel elektroforez görüntüleri	66
Resim 11. <i>papA</i> geni sekans sonucu	67
Resim 12. <i>papG</i> allel I geni sekans sonucu.....	67
Resim 13. <i>papG</i> allel II geni sekans sonucu	67
Resim 14. <i>papG</i> allel III geni sekans sonucu.....	67

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>E. coli</i> adezinlerinin idrar, insan böbrek ve mesane epitel hücrelerine bağlanması.....	9
Tablo 2. UPEC ve ilişkili epitelyal reseptörler.....	11
Tablo 3. <i>Enterobacteriaceae</i> enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antimikrobiyaller	22
Tablo 4. Çalışmada kullanılan primerler	45
Tablo 5. Mastermiksın hazırlanma oranları	51
Tablo 6. <i>usp</i> PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı	52
Tablo 7. Kullanılan antibiyotiklerin adı, disk içerikleri ve değerlendirme kriterleri.....	53
Tablo 8. GSBL direnç genlerinin PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı	54
Tablo 9. P fimbria genlerinin PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı.....	54
Tablo 10. Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı	58
Tablo 11. İzolatların antibiyotik duyarlılık ve direnç durumları.....	59
Tablo 12. GSBL pozitif ve GSBL negatif izolat oranları.....	60
Tablo 13. GSBL pozitif izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve direnç oranları	61
Tablo 14. GSBL negatif izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve direnç oranları.....	62
Tablo 15. GSBL genlerine sahip izolatların sayı ve oranları	63
Tablo 16. <i>E. coli</i> izolatlarında <i>papA</i> ve <i>papG</i> bulunma oranları	65
Tablo 17. <i>E. coli</i> izolatlarında <i>papG</i> allel'lerinin dağılımı	65
Tablo 18. GSBL üreten ve üretmeyen izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve direnç durumunun karşılaştırılması.....	68
Tablo 19. P fimbria taşıyan ve taşımayan izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik durumlarının karşılaştırılması.....	69

ÖZET

İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHIA COLI* SUŞLARINDA P FİMBRIA VARLIĞI VE ANTİBAKTERİYELLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ İNCELENMESİ

İnegöl Paykoç E. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2016.

Üriner sistem enfeksiyonlarından (ÜSE) sıklıkla izole edilen patojenler arasında yer alan *Escherichia coli*'nin en önemli virulans faktörlerinden birisi piyelonefrit ile ilişkili fimbria (*pap*) olan P fimbriyalardır. Bu çalışmada; ÜSE'li hasta idrarlarından *E. coli*'nin izolasyonu, izolatların antibiyotik dirençliliklerinin, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimlerinin ve P fimbria varlıklarının incelenmesi amaçlandı. Çalışmada materyal olarak idrar örneklerinden bir yıl boyunca izole edilen 133 *E. coli* kullanıldı. Bakterilerin izolasyonları konvansiyonel yöntemlerle yapıldıktan sonra, identifikasyonları polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile doğrulandı. Fenotipik olarak 7 antimikrobiyal aileye ait 20 antibiyotiğe karşı direnç profilleri disk difüzyon yöntemi (DDT) ile, GSBL enzim varlığı ise çift disk sinerji testi (ÇDST) ile araştırıldı. Genotipik olarak GSBL genlerinin (*bla*TEM, *bla*CTX, *bla*OXA, *bla*SHV) ve P fimbria genlerinin (*papA*, *papG*) varlığı incelendi. Ki Kare testi; i. GSBL üreten ve üretmeyen ii) *papA* ve *papG* taşıyan ve taşımayan izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik durumları arasındaki ilişki karşılaştırmak için kullanıldı. DDT sonucunda izolatların %50.30'ünün siprofloksasine, %42.10'inin trimetoprim sulfametaksazole, %13.55'inin sefazoline dirençli oldukları belirlenirken, kullanılan diğer 17 antibiyotiğe karşı direnç oranlarının %0.75 ile %9.80 arasında değiştiği tespit edildi. İzolatların %49.7'si fenotipik, %59.4'ü genotipik olarak GSBL pozitif olduğu belirlendi. İzolatlarda *bla*TEM %32.3, *bla*CTX %31.6, *bla*OXA %21.0, *bla*SHV %2.3 oranında saptandı. İzolatların %27.0'sinde toplam 51 *pap* geni (%12.0 *papA*, %26.3 *papG*) belirlendi. Ki Kare testi neticesinde i) GSBL üreten ve üretmeyen izolatlarda siprofloksasin ve trimetoprim-sülfametaksazol antibiyotikleri açısından ii) siprofloksasin direnci ile *papG* varlığı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı. Bundan sonraki çalışmalarda, ÜSE'lerinden izole edilen GSBL pozitif *E. coli*'lerin plazmitleri araştırılıp, bu plazmitlerin GSBL üretimine katkıları incelenebilir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, p fimbria, antimikrobiyal direnç, genişlemiş spektrumlu β -laktamaz

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF P FIMBRIAE PRESENCE IN *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED FROM URINE SAMPLES AND THEIR ANTIBACTERIAL RESISTANCE

İnegöl Paykoç E. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2016.

The most important virulence factor of *Escherichia coli* that it's commonly isolated from urinary tract infections (UTI) is pyelonephritis associated P fimbriae (*pap*). In this study, after the isolation of *E. coli* from patients with UTI, the investigation of the presence of P fimbriae, extended spectrum β -lactamase (ESBL) enzymes, and antimicrobial resistance of isolates were aimed. The material of the study was consisted of 133 *E. coli* strains isolated from urine samples in a one year period. After the isolation of microorganisms with conventional methods, identification was performed with polymerase chain reaction (PCR). The presence of ESBL enzyme and antibiotic resistance profiles to 20 antibiotics as which phenotypically belong to 7 antimicrobial families were investigated with disc diffusion test (DDT) and double disc synergy test (DDST), respectively. The presence of ESBL genes (*bla*TEM, *bla*CTX, *bla*OXA, *bla*SHV) and P fimbriae genes (*papA*, *papG*) were also investigated. Chi-square test was used to compare the antibiotic resistance and sensitivities of i) ESBL producing and non-producing and ii) *papA* and *papG* bearing and non-bearing isolates. It was determined that 50.30%, 41.90% and 13.80% of isolates were resistant to ciprofloxacin, trimethoprim sulphamethoxazole, cefazolin, respectively, while antibiotic resistances for other 17 antibiotics varying between 0.75% and 9.80% according to DDT. It was determined that 49.7% of isolates were found as ESBL positive as phenotypically, while 59.4% were genetically positive. The percentages of genes detected with PCR were 32.3%, 31.6%, 21.0%, 2.3% for *bla*TEM, *bla*CTX, *bla*OXA, *bla*SHV, respectively. A total of 51 *pap* genes (12.0% *papA*, 26.3% *papG*) were detected in the 27.0% of total isolates. The statistically significance was found between i) ESBL producing and non-producing isolates for ciprofloxacin, trimethoprim sulphamethoxazole ii) between ciprofloxacin resistance and the presence of *papG* in Chi-square test. Further studies should be designed to investigate the plasmids of ESBL

positive *E. coli* stains isolated from UTI and whether plasmids are responsible for ESBL production.

Keywords: *E. coli*, p fimbriae, antimicrobial resistance, extended spectrum β -lactamase



1. GİRİŞ

Escherichia coli günümüzde toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli etkenleri arasında üst sıralarda yer almaktadır. İdrar yolu enfeksiyonlarına (İYE) neden olan *E. coli*'ler, üropatojenik *E. coli* (UPEC) olarak adlandırılırlar. *E. coli*'nin yaygın enfeksiyon etkeni olarak izole edilmesinin önemli nedenleri arasında normal flora bakterisi olması, virulans faktörler sayısının fazlalığı ve antibiyotiklere karşı kolay ve hızlı direnç geliştirebilme yeteneği gelmektedir (Akçam ve ark, 2004).

Antibakteriyel direnç, tıp dünyasının karşı karşıya olduğu ve her geçen gün daha da önem kazanan sorunlarından biridir. *E. coli*'nin önemli beta laktamaz enzim üreticilerinden birisi olduğu bilinmektedir. Beta-laktamaz enzimini üreten bakteriler, beta-laktam antibiyotikleri hidrolize ederek etkisizleştiren ciddi bir direnç mekanizmasına sahiptir. Başta penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler gibi pek çok antibiyotik beta-laktamaz enzimleri tarafından hidroliz edilerek etkisiz hale dönüştürülmektedir. En az 350 farklı beta-laktamaz enzimi tanımlanmıştır ve en önemli enzim grupları plazmitle kodlanan sefalosporinaz, metallo-beta-laktamaz ve genişlemiş spektrumlu betalaktamaz (GSBL)'lardır (Akçam ve ark, 2004). GSBL'ler, genellikle Gram negatif çomak şekilli bakterilerde bulunan, geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama karşı dirençten sorumlu olan enzimlerdir (Demir, 2006). İlk olarak 1983'de Avrupa'da *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında bildirilen bu enzimler, daha sonra *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerinde de gösterilmiştir (Hoşgör ve ark, 1998). GSBL'ler çoğunlukla TEM ve SHV türevi enzimler; bazı oksasilini hidroliz eden (OXA) enzimler ve CTX-M tipi beta-laktamaz enzimleridir (Seid ve Asrad, 2005).

Özellikle *E. coli*'ler başta olmak üzere, GSBL üretiminin süratle diğer patojen bakterilere de yayılması çoklu antibakteriyel dirençle mücadeleyi daha da zor hale getirmiştir. GSBL üreten bakterilerin enfeksiyon oluşturma olasılığı; hastanede yatışın uzaması, yoğun bakım, invaziv girişimler ve gereksiz genişlemiş spektrumlu betalaktam antibiyotik kullanımı gibi birtakım etmenlerle artmaktadır. GSBL'nin hastane enfeksiyonları arasındaki oranı giderek artmakta ve genellikle çoklu ilaç direncine sahip olduklarından tedavileri daha da zorlaşmaktadır (Demir, 2006).

Mikroorganizmaların hastalık yapma yetenekleri virulans faktörlerine sahip olmaları ile ilişkilidir. UPEC suşlarının bilinen en önemli virulans faktörlerinin başında

 roepitel hücrelere yapışma yeteneği yani adezyon özellikleri gelir. Bakterinin  riner sisteme girdikten sonra, adezyonunu sağlamada piyelonefrit ile ilişkili fimbria (*pap*) olan P fimbrianın en önemli faktör olduğu anlaşılmıştır. P fimbria, P kan grubu antijenlerini reseptör olarak tanır (Demir, 2006).

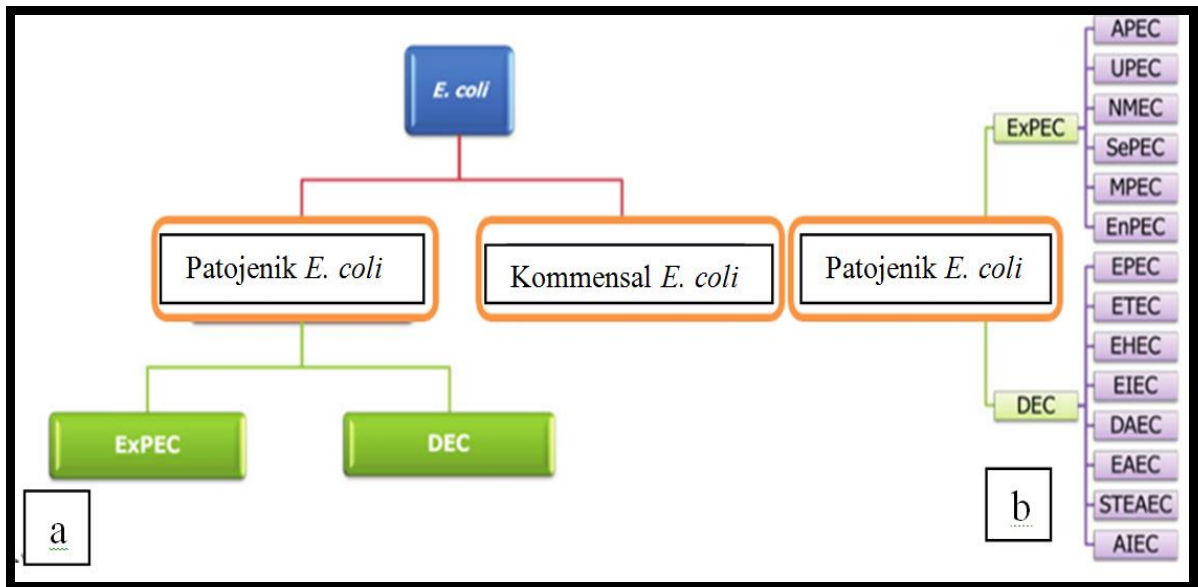
Fimbrialar bakterinin hücre duvarında bulunan, protein yapısında, konak epitel hücrelerdeki glikoprotein ve glikolipitlere bağlanan saç benzeri yapılardır. UPEC suşlarında bulunan P fimbrialar, bugun bilinen en önemli virulans faktorlerinin başında gelir özellikle pyelonefrit ve sistit vakaları ile ilişkili olup Gal-Gal reseptörleri ile üriner sistem epitelyumuna bağlanırlar. P fimbria büyük bir sub nit olup *papA* ve üst üriner sistemde adezyondan sorumlu gen olan *papG* en önemli sub nitlerindendir. *papG* bağlanmadan sorumludur (Johanson ve ark, 2003; Ruhi ve ark, 2010).

UPEC’lerde antibiyotik duyarlılığı ile ilgili dünyada ve ülkemizde birçok çalışma yapılmıştır. Ancak her geçen yıl direnç profili kullanılan ilaçlara bağlı olarak hızla değişmektedir. Bu nedenle her ülke kendi s rveyans sistemini ortaya koymak zorunda kalmaktadır. Antimikrobiyallere karşı direnç sadece ülke bazında değil, bölge, şehir hatta hastane düzeyinde ele alınması gereken bir konudur. Yapılan literatür çalışmasında son yıllarda, Aydın yöresinde üriner sistem enfeksiyonu ( SE) bulunan hasta idrarlarından izole edilen *E. coli*’lerde P fimbria varlığı, izolatların antibiyotik duyarlılıkları ve genişlemiş spektrumlu  -laktamaz enzim varlıklarının hem fenotipik hem de genotipik yöntemlerle birlikte değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle, çalışmamızda;  SE bulunan hastaların idrarlarında *E. coli*’lerin konvansiyonel yöntemler kullanılarak izolasyonu, izolatların disk difüzyon testi (DDT) ile antibiyotik dirençlerinin, çift disk sinerji testi (ÇDST) ile GSBL enzimlerinin belirlenmesi; ayrıca polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile genotipik olarak GSBL enzim genlerinin (*blaTEM*, *blaCTX*, *blaOXA*, *blaSHV*) ve P fimbria genlerinin (*papA*, *papG*) varlığının incelenmesi amaçlandı. Böylece yöremizde *E. coli* nedeni üriner sistem enfeksiyonlarında antibiyotik direnç profillerinin belirlenerek ampirik tedavilerin daha sağlıklı yapılabilmesine katkı sağlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

E. coli, ilk kez 1885’de Theodor Escherich tarafından bebek dışkılarından izole edilmiştir. 1919 da Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia* cins ismi önerilene kadar *Bacterium coli commune* ismi sonra *Escherichia coli* olarak değişmiştir (Unat, 1986). *E. coli* suşlarının çoğunluğu patojen olmayan ve kommensal bakteriler olarak bilinmektedir. 1940’lı ve daha sonra 1950’li yıllarda insanda hastalık yapan patojen bir *E. coli* ilk kez ilk kez bir *E. coli* suşu izole edilmiştir (Chen ve Frankel, 2005).

E. coli iki önemli gruba ayrılır: Kommensal ve Patojenik. Gastrointestinal hastalıkların bulaştırılmasından sorumlu olan patojenik grup da iki alt grupta incelenir: Ekstraintestinal Patojenik (ExPEC) ve Diyarejenik *E. coli* (DEC). ExPEC altı alt patotipe ayrılmıştır: Üropatojenik *E. coli* (UPEC), yenidoğan menejit ile ilgili *E. coli* (NMEC), kanatlı patojenik *E. coli* (APEC), sepsis ile ilgili patojenik *E. coli* (SePEC), meme patojenik *E. coli* (MPEC) ve endometrial patojenik *E. coli* *E. coli* (EnPEC). DEC’nin sekiz alt patotipi bulunmaktadır: Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Diffuzaderant *E. coli* (DAEC) ve Enteroagregatif *E. coli* (EAEC). Son yıllarda iki yeni alt patotip varlığı bildirilmiştir: Aderantinvasiv *E. coli* (AIEC) ve Shigatoksijenik Enteroagregatif *E. coli* (STEAEC) (Clements ve ark. 2012) (Şekil 1).



Şekil 1. a) *E. coli* grupları ve ilişkili patotipleri b) Patojenik *E. coli*'lerin patotip ve alttıpleri

İnsanlarda hastalığa neden olan ExPEC'lerin zoonotik potansiyellerinin incelenmesi sonucunda, insanlardan izole edilen suşların, kolibasillozisli tavukları enfekte edebileceği gösterilmiştir (Tivendale ve ark, 1997). Başka bir çalışma da insanlarda hastalığa neden olan UPEC ve kanatlılarda kolibasillozisten izole edilen APEC'lerin aynı virulans genlerine sahip olduklarını göstermiştir (Zhao ve ark, 2009b). Son yıllarda yapılan bir çalışmada tavuk bağırsak ve etlerinden izole edilmiş olan filogenetik grup B2'ye ait olan *E. coli*'lerin insanlarda üriner sistem enfeksiyonlarında (USE) klinik belirtilere neden olabileceği bildirilmiştir. Buna ilaveten, farklı kaynaklardan (insan USE, kanatlı eti, sağlıklı kanatlı) izole edilmiş olan B2 filogenetik grubuna dâhil olan *E. coli*'lerin yüksek virulans profiline sahip oldukları bildirilmektedir (Jacobsen ve ark, 2012). APEC plazmidleri diğer ExPEC suşlar için virulans genlerinin kaynağı olabilir (Johnson ve ark, 2012). UPEC ve APEC izolatlarında yaygın olarak görülen virulans genleri APEC'lerin büyük ve aktarılabilen plazmidleri ile ilgilidir (Rodriguez-Siek ve ark, 2005). ExPEC'lerin zoonotik risklerinin taşıdıkları bu büyük plazmidlerle ilgili olduğuna inanılmaktadır (Johnson ve ark, 2012).

2.1. Üriner Sistem Enfeksiyon Etkeni *E. coli*

İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *E. coli*, üropatojenik *E. coli* olarak adlandırılır. UPEC toplumun % 70-95'inde İYE'ye neden olurken hastane enfeksiyon vakalarının % 50'sinden sorumlu olduğu bildirilmektedir. Bu patotip sistitis, piyelonefritis, bakteriüri gibi önemli USE sorunları ile ilgilidir. Gebe kadınlar, yaşlılar, yenidoğanlar, diyabetli multiple sclerosis veya üriner kateterli ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler risk altındadır (Foxman, 2002). Bakteri konak dokularına yapıştıktan sonra, epitelde kolonize olur, immun sistem savunma mekanizmalarından kaçarak doku hasarı oluşur. *E. coli* konak doku üroepitelyumuna tip fimbrialardan olan fimbrial adezin *FimH* yapışmaktadır (Gunther ve ark, 2002). Adezyondan sonra hemolizin, aerobaktin, serum direnci ve kapsül oluşumu gerçekleşir. Üropatojenik bir suş bağırsakta bulunduğu idrar yolu enfeksiyonu gelişebilir (Kaper ve ark, 2004). *E. coli*'nin yaygın enfeksiyon etkeni olarak izole edilmesinin önemli nedenleri arasında normal flora bakterisi olması, virulans faktörler sayısının fazlalığı ve antibiyotiklere karşı kolay ve hızlı direnç geliştirebilme yeteneği gelmektedir (Akçam ve ark, 2004).

İnsan fekal florasında, yaygın olarak yaşayan Gram negatif, basil formunda bir mikroorganizma olan *E. coli* genellikle kolona yerleşen bir flora bakterisidir. Ancak, üriner sistem enfeksiyonlarının büyük bir bölümü kolon florasında yaşayan bakteriler tarafından oluşturulurken diğer bir bölümünde perineal bölge florasında bulunan mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonu, üroepitelyumun bakteriyel saldırıya karşı vermiş olduğu, sıklıkla bakteriüri ve piyürinin olaya katıldığı enflamatuvar yanıt olarak da bilinir (Johnson, 1991).

Üriner sistem mikroorganizma ile karşılaştığında, enfeksiyonun gelişip gelişmeyeceğini konağın savunma mekanizması ile bakteri virulansları belirler. Bu anlamda özel patojenite teorisine göre, yeni bir çevrede koloni yaşam alanının sınırlıklarından kaçabilmek ve diğer bakteri türlerinin rekabetinin bulunmadığı yeni bir alana geçebilmek için *E. coli*'nin konak savunmasını aşabilmesini mümkün kılan özel yapılarının bulunması gereklidir (Johnson, 1991). Bakterilerin idrar yollarında enfeksiyon oluşturması için ilk önce üroepitel hücrelere spesifik olarak tutunması gerekir. Bu da fimbriyal ve afimbriyal diğer adezinler sayesinde gerçekleşir. Fimbriyaların, bakterilerin epitel hücrelerine adezyonunu sağlaması onu önemli bir virulans faktörü yapar. Üriner sistemde, enfeksiyon oluşturan UPEC'lerde var olan F1 (tip 1) fimbriya veya P fimbriyalar yardımı ile bakteriler üroepitelyal hücrelere tutunup idrar akımına karşı gelerek patojenitelerini arttırırlar (Johnson, 1991; Sobel ve Kaye, 2000).

2.1.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

E. coli, yaklaşık olarak 2–6 µm boyunda ortalama 1,0–1,5 µm eninde çomak şeklinde sporsuz, kapsülsüz bir bakteridir. Logaritmik üreme fazında genellikle 2–4 µm boyunda ise de eski kültürlerde ve bazen idrarda daha uzun filamentler şeklinde görülebilmektedir. Granül içermez ve homojen boyanır. *E. coli* peritrik kirpikleri aracılığıyla hareketli olmakla birlikte hareketleri yavaştır ve hatta hareketsiz suşlara da sık rastlanmaktadır (Berkiten, 2005). Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanan Gram negatif bir bakteridir. *E. coli* çoğunlukla fimbria oluşturmaktadır ve gerek morfolojileri, gerek antijenik özellikleri ile farklı tipleri bulunan fimbrialar protein yapıdadır (Töreci, 2002). Çoğunda hemagglütinasyon yapan ve bu hemagglütinasyonun mannoz tarafından önlendiği mannoza duyarlı (MS) Tip I fimbriaları bulunmaktadır. Az bir kısmında ise hemagglütinasyonu mannoza dirençli (MD) Tip I fimbria bulunmaktadır (Bilgehan, 2000).

2.1.2. Üreme Özellikleri

E. coli buyyon, peptonlu suda ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürer, fakültatif anaerobtur. En iyi üreme 37°C’de, nötral reaksiyonda ve oksijenli ortamda olur. Bu koşullarda logaritmik üreme fazında bakteri 20 dakikada ikiye bölünebilir. Optimum pH 7–7,2 dir ancak 18–44,5°C arasında, pH 5–8 aralığında daha yavaş da olsa ürer. Özellikle 44°C’ de üreyebilmesi *Enterobacter* ve *Serratia* gibi yakın bakterilerden ayırdedilmesini kolaylaştırır (Töreci, 2002). Sıvı besiyerlerinde genellikle homojen bulanıklık meydana getirirken, fimbriyalı suşlarda yüzeyde ince bir zar, eski kültürlerde ve rough (R) seklindeki suşlarda dipte bulanıklık meydana gelebilir. Katı besiyerlerinde, 24 saatte düzgün kenarlı, ortası kabarık, 2–3 mm çapında, smooth (S) formundaki suşlar, pigmentsiz koloniler oluşturlar. R seklindeki bakteriler ise üzeri tanecikli, kenarları düzgün olmayan koloniler oluşturlar ve bu suşlar fizyolojik tuzlu suda aglütinin bulunmadan da spontan aglütinasyon verirler. Bazı *E. coli* suşları üremeleri olağanın dışındadır ve besiyerlerinde üremesi daha uzun zaman alır. Bu suşlar CO₂’li ortamda çukolata jelozunda, jeloz veya kanlı jelozdakinden daha iyi ürerler (Töreci, 2002). *E. coli*, MacConkey ve Eosin Methylene Blue Agar (EMB) gibi seçici besiyerlerinde güzel ürer. MacConkey içeriği laktozu kullandığından kırmızı renkte koloniler ve safrayı çöktirttiğinden zonlu, EMB besiyerinde laktozu kullandığından metalik röfle veren yeşil-siyah, Sistein Laktoz Elektrolit Deficient agar ve Xylose Lysine Deoxicholate agar besiyerlerinde sarı koloniler oluşturarak ürerler. Bazı suşlarda özellikle üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilenler, kanlı jelozda hemoliz oluşturabilirler (Kepekçi, 2005).

2.1.3. Biyokimyasal Özellikleri

E. coli’ lerin glikozdan asit ve gaz oluşturmaları, laktoz, D-mannitol, D-sorbitol, L-arabinoz, L-ramnoz, maltoz, D-ksiloz, trehaloz ve D-mannozu fermente etmesi; adonitol, inositol, selobioz, eritrol, D-arabinolü fermente etmemesi, nitratı nitrite indirgemesi önemli biyokimyasal özelliklerindendir (Töreci, 2002). *E. coli*’ler triptofandan indol yaparlar. Metil kırmızısı (MR) testi olumlu, Voges proskauer (VP) testi olumsuzdur. Simmons sitrat besiyerinde üremezler. Bu dört karakter yani indol (I), MR, VP ve sitrat (C), birlikte incelenir ve ilk harflerinin birlesmesinden oluşan IMVIC testleri adını alırlar. Özellikle barsak bakterilerini bu testlerle olan ilişkilerine göre ayırt etmek mümkündür. Bu durumda

E. coli için IMVIC testleri ++ -- olarak saptanır. *E. coli* bakterileri bazı kökenleri dışında üreyi parçalamazlar, genellikle H₂S için ayıraçlı besiyerlerini siyahlandıracak kadar H₂S yapmazlarsa da, sisteinli besiyerlerinde az miktarlarda H₂S yaptıkları saptanmıştır (Bilgehan, 2000).

2.2. Direnç

E. coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60°C ısıda 30 dakika, oda sıcaklığında uygun şartlar ile uzun süre canlılığını koruyabilirler. Düşük ısılara dirençli, dezenfektanlara karşı dirençsizdir. Malaşit yeşili, brillant yeşili ve fuksin gibi boyalar, safra, safra tuzları, sodyum tetrasyonat, bizmut sitrat, sodyum sülfat, sodyum dezoksikolat, selenit tuzlarına karşı direnci *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakterilere karşılaştırıldığında daha azdır. Bu maddeler uygun miktar ve yoğunlukta besiyerlerine konulduğunda *E. coli* basillerinin inhibe edilerek, birlikte bulundukları *Salmonella* ve *Shigella* 'lar için ayırtıcı ve çoğaltıcı özellik katarak identifikasyonu kolaylaştırılır. Bakterilerde direnç geçisi kromozomal ya da plazmid aracılı olabilir. Kromozomal dirençte ya ilacın hedefinde veya ilacın yakalanmasını denetleyen membran taşıma sistemini kodlayan gende mutasyon vardır. Direnç plazmidleri (R faktörleri) kromozom dışı, çembersel, çift iplikli DNA molekülleri olup antibiyotikleri yıkabilen ve membran taşıma sistemlerini değiştirebilen çeşitli enzimlere ait genleri taşırlar (Kepekçi, 2005). *E. coli* kökenlerinin çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen direnç plazmitleri taşıdıklarından bugün dışkıdan izole edilen *E. coli* 'lerin özellikle hastane ortamından ayrılan kökenlerinin önemli bir kısmı ampisilin, sefalotin, streptomisin, tetrasiklinler, sulfonamid; bir kısmı da kloramfenikol, kanamisin ve trimetoprim ve başka kemoterapötiklere karşı direnç kazanmışlardır. *E. coli* 'ler benzilpenisilinlere karşı da doğal dirençlidirler (Bilgehan, 2000).

2.3. *E. coli*'nin Antijenik Yapısı

Bütün bağırsak bakterilerinde olduğu gibi *E. coli* 'nin de karmaşık ancak iyi bir antijen yapısı ve değişik antijen tipleri vardır. Genel olarak bu çeşit bakterilerde bulunan O somatik ve H kirpik antijenlerinden başka K kapsül antijeni kompleksinde bulunur. Bugüne kadar, 170'in üzerinde O antijeni, 50'nin üzerinde H-antijeni ve 80'den fazla K-antijeni

tanımlanmıştır. *E.coli* antijenleri ile *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Yersinia* ve *Providencia* cinsi bakterilerin O antijenleri arasında birçok karışıklıklara yol açabilen sayısız çapraz reaksiyonlar vardır. *E. coli*'ler O antijenlerine göre gruplara, H ve K antijenleriyle de serovarlara ayrılırlar (Brooks ve ark, 2001).

O Antijenleri: Somatik, ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapısında antijenlerdir. Kaynatmaya ve alkole dirençli, formole dayanıksızdır. Şimdiye kadar birbirinden ayrı 170 O antijeni bulunmuşsa da bunlardan en sık 25 kadarına rastlanır (Baron ve ark, 1994).

H antijenleri: Sayıca az ve monofazik olan kirpik antijenleri hareketli kökenlerde bulunurlar, protein yapısında ve termobildirler, 100°C'de ısıtılmakla, alkol ve proteolitik fermentlerle harap olurlar, formole dayanırlar. Şimdiye kadar 56 H antijeni bildirilmiştir. İdentifikasyonda ancak 20 kadarı kullanılır (Baron ve ark, 1994).

K antijenleri: Kapsül niteliğindedirler, O antiserumlarıyla aglutine olmazlar. Polisakkarit yapıdadır. Isıya duyarlıdır. K-antijenleri L, A, B harfleri ile gösterilen bir antijen grubudur. Bazı B-antijenleri ile fimbrialar benzemektedir. Çoğunlukla hemolitik özellikte olan L-antijenleri, fındık faresine toksik, tavşanlara ise nekrotik etkilidir. Özellikle 18, 9, 20, 101 antijenlerini taşıyan *E. coli* suşları A antijeni de oluşturma yeteneğindedir. 120°C'de 2,5 saatte tahrip olurlar. B-antijenleri, ısıya duyarlılık yönünden L-antijenine benzer. B-antijeni patojenite ile ilgili olan başlıca kapsül antijenidir. Isıtılmaya 100°C, 1 saat dayanır (Baron ve ark, 1994). K 1, 2, 3, 5, 12 ve 13 antijenleri içeren *E. coli* suşları %70 piyelonefrit etkenidir. En sık saptanan K1 antijeni olup bu antijenin opsonizasyon ve fagositoza engel olma mekanizması bakteri hücre yüzeyine hidrofilik ve negatif yüklü özellik kazandırması ile olur. Ayrıca alternatif kompleman yolunu inhibe ederek, kompleman sisteminin bakterisidal etkisini yok eder (Dieckhause, 2003). Bir diğer antijen olan fimbrial "F" antijenleri (pilus antijenleri), çok sayıda fimbria oluşturan bakterilerde O aglütinasyonunu engelleyebilen, oda sıcaklığında oluşturulmayıp, 37°C' de oluşturulan, eritrosit ve çeşitli hücrelere bakterinin aderansını sağlayan protein yapıda antijenlerdir (Töreci, 2002).

2.4. Virulans Faktörleri

Virulans, mikroorganizmanın hastalık oluşturma yeteneği olup, mikroorganizmanın patojen olma düzeyini gösterir. Konağa giriş ve konağın birincil savunma mekanizmalarından kaçış, konak hücrelerine tutunma mikroorganizmaların daha çok

üremesi ve yayılması, konak hücreye toksinlerle ya da zarar verme, konağın sekonder savunma mekanizmalarından kaçış bakteriyel patogenezin aşamalarını oluşturur. Mikroorganizmanın patojenliğinin başarısı bu basamakları kısmen ya da tamamen gerçekleştirmesine bağlıdır. Virulans faktörler epitel hücrelerde koloni oluşturarak canlılığın savunma mekanizmalarını yok ederek epitel hücreleri istila ederler. Bu UPEC suşlarına ait virulans faktörleri bakteriüriden kronik piyelonefrite kadar farklı klinik belirtilerle ifade edilirler. UPEC suşlarının bilinen virulans faktörleri arasında, üroepitelyal hücrelere yapışma yeteneği (adezyon), ekzotoksinler, siderofor, hemolizin, kapsül, antijenik faz değişikliği sayılabilir. (Eisenstein ve Zaleznik, 2000).

2.4.1. Adezinler

Birçok Gram negatif bakteri fimbria veya pili denilen ve konak dokulara yapışmaya aracılık eden adeziv moleküllere sahiptir. Adezinler ya da fimbrialar ince, saç benzeri, bakterinin hücre duvarında bulunan organellerdir. Fimbrialar, 2-7 nm büyüklüğünde, hücre başına 100-1000 oranında olacak şekilde bakteri hücre yüzeyinde peritriköz olarak sıralanmış çubuğa benzer proteinöz yapılardır. Bunlar yaklaşık 20 nm çaptaki flagellalardan kolaylıkla ayırt edilebilirler (Wult ve ark, 2003). UPEC'lerin önemli virulans faktörlerinden olan fimbrialar, konak dokularına bağlanarak etkenin kolonizasyonunu sağlarlar Tabo 1'de gösterilmiştir (Johnson, 1991).

Tablo 1. *E.coli* adezinlerinin böbrek, mesane ve idrar epitel hücrelerine bağlanması

	S fimbria	P fimbria	Tip 1 fimbria
Böbrek			
Bowman kapsülü	+++	+++	-
Glomerul	+++	+++	-
Proksimal tubulus	++	++	+++
Distal tubulus	++	++	+
Toplayıcı kanal	++	+	+
Damar duvarı	+++	+++	+++
Mesane			
Epitel	++	+	-
Damar duvarı	+++	+++	++
Kas tabakası	+	+	+++
Bağlayıcı doku	++	-	-
İdrar			
Epitel hücreleri	+	+	-

Sembol: -, +, ++, +++, sırasıyla, saptanamadı, zayıf, orta, ve güçlü bağlanma.

Fimbrialar, protein alt ünitelerinden oluşurlar. Çok sayıda ve farklı karakterlere sahip tipleri belirlenmiştir. Fimbrialar bakterinin sitoplazmasından orijin alırlar ve hücre duvarı boyunca yerleşmişlerdir. Sindirim sistemi ve diğer sistemlerdeki gibi üriner sistem epitel hücrelerinde bulunan glikoprotein ve glikolipidlere bağlanarak bu sayede bakterilerin üriner sisteme dâhil olmasını sağlarlar (Kucheri ve ark, 2005).

Üropatojenik *E. coli* suşları çeşitli genler tarafından kodlanan fimbrialara sahiptir. Sıklıkla rastlanan fimbrial proteinler üropatojenik *E. coli* enfeksiyonları ile de ilişkilidir ve bunlar (tip 1 fimbria) ve mannoz dirençli P fimbria (P kan grubu antijenleri tanıyanlar), S fimbria (sialyl-galaktozid rezidüleri için spesifik) ve Dr fimbrialarıdır (Kucheri ve ark, 2005). Fimbrialar, reseptör spesifitesine ve adezyon özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Fonksiyonel özelliklerine göre ise mannoz duyarlı ve mannoz dirençli olarak iki gruba ayrılırlar. Bu ayrım bakterinin eritrosit veya epitel hücrelerine yapışmasını engelleme durumuna göre yapılmaktadır. Mannoza duyarlı fimbrialar genellikle Tip 1 fimbrialarıdır (Lane ve ark, 2005). Tip 1 fimbrialar, üropatojenik *E. coli*'lerin %80'i tarafından sentezlenen ve en sık rastlanan virulans faktörleridir. Bakteriyel adezyonu sağlamakla birlikte, buna karşı olan yangısal yanıtı artırır (Lane ve ark, 2005). Tip 1 fimbria 'common pili' olarak da adlandırılmaktadır. Tip 1 fimbria, vajina ve idrar kesesinde kolonizasyon oluşturmaya katkıda bulunur. Ayrıca hücrelere bağlanmayı destekler. İdrar kesesi içerisinde, Tip 1 fimbria, idrar kesesi yüzey epitelinde bulunan mannozu glikoproteinlere ve üroplakinlere bağlanır. Genellikle sistitis ve pyelonefritis olgularından izole edilmektedir (Johnson, 1991). Bu bağlantı üromukoid madde tarafından inhibe edilebilir (Johanson, 2003). Mannoza dirençli fimbrialar ise P, S/F1C fimbrialar ve Dr adezin ailesidir. P fimbrialar, ikinci en sık rastlanan virulans faktörleridir. Özellikle, pyelonefritis olgularının patogeneğinde önemli role sahiptirler. P fimbrialar, epitelyum hücre aktivasyonunu sağlayan ve IL-6 ve IL-8 gibi sitokinleri üreten oligosakkarit reseptörlere bağlanarak etki gösterirler ve sitokin üretimine neden olurlar (Kucheri ve ark, 2005). P fimbriaların pyelonefritis, sepsis ve prostatitisle güçlü epidemiyolojik ilişkileri vardır. P fimbrialar patogeneziste Gal-Gal reseptörleri ile üriner sistem epitelyum hücrelerine bağlanırlar (Emody ve ark, 2003). S/F1C fimbria ise üriner sistem enfeksiyonları ve bakteriyemiden sorumludur. Mukoza ve endotel hücrelerine bağlanırlar (Emody ve ark, 2003). Vajina, idrar kesesi ve bağırsak epitelyum hücrelerinde reseptörleri bulunur. Bu fimbriaya sahip etkenler vajinada kolonize olurlar (Johnson, 1991). Dr adezin ailesi, fimbrial adezinler olan Dr adezinlerini ve non-fimbrial olan Afa-I, Afa-II, Afa-III, Afa-IV, Nfa-I ve Dr-II adezinlerini içermektedir (Mulwvey, 2002). *E. coli* tarafından sentezlenen

komplement düzenleyici proteinler ile epitelyum hücrelerine bağlanarak etki gösterirler. Bu fimbrialar daha çok sistitis ve pyelonefritis olgularından sorumludurlar (Kucheri ve ark, 2005). Dr adezinleri ayrıca O75X adezinlerini de barındırmaktadır. Ayrıca bunlar, renal interstisyum, Bowman kapsülü, tubulus bazal membran hücreleri, transisyonel epitel ve idrardaki eksfoliyatif epitel hücrelerine bağlanmaktadır (Johnson, 1991). Bakteriyel aderans, enfeksiyon oluşumunu sağlayan birinci basamaktır. UPEC'ler eksprese ettikleri bir takım fimbriaları ile değişik glikokonjugat reseptörlerine spesifik bağlanma göstererek üriner epitele bağlanmaktadır. Tip 1 ve P fimbrialar, *E.coli*'nin üriner sistem enfeksiyonlarının patogeneğinde bilinen en önemli oluşumlardandır (Erdem, 1999). Tip 1 yaygın sıklıkta ve alt üriner sistemde, P fimbria ise üst üriner sistem enfeksiyonlarında görülür. Bu fimbrialar insan ve çeşitli hayvanların eritrositlerine bağlanarak hemaglutinasyon oluştururlar. Fimbriaların eritrositlere bağlanma özelliklerinden yararlanılarak varlıkları in-vitro testlerle belirlenebilir (Naveen ve Mathai, 2005). Üriner sistemde bakteriler tarafından kolonizasyonda anahtar adım üroepitel hücrelere yapışmadır. UPEC ve ilişkili epitelyal reseptörler Tablo 2'de gösterilmiştir (Donnenberg, 2009).

Tablo 2. UPEC ve ilişkili epitelyal reseptörler

Adezin	Sekans	Reseptör	Açıklama
Tip 1 fimbria	Pil, <i>fimH</i> , <i>fimB</i> , <i>fimE</i>	Epitelyal hücreler ve PMN'lerdeki mannozile proteinler	SIgA ve Tamm-Horsfall proteinlerine bağlanarak
P fimbria (MR)	<i>papG</i> (sınıf Ia) <i>papG</i> <i>papGAP</i> (sınıf II) (<i>papG_{IA2}</i>) <i>papG</i> (sınıf III)	Gal- α 1-4 (P kan grup antijeni)	Nadir Piyelonefrit ve bakteriyemi ile güçlü ilişki Üriner sistem anomali olanlarda ve erkeklerdeki sistitlerde
S/F1C fimbria (MR)	<i>Sfa/fac</i>	Sialyl-(α -2-3)galaktozid	THP ile aderansı inhibe edilir
Dr ailesi(fimbriyal ve fimbriasız)	Drb operon,adezin (E geni); Afa E1-5,Afa F	Dr kan grup antijeninini çürümeyi hızlandırıcı faktör komponenti ve Tip IV kollajen	

MR: Mannoz Dirençli **MS:** Mannoz Duyarlı **PMN:** Parçali Çekirdekli Notrofil, **SIgA:** Salgısal Ig A

Konak hücrelere tutunmada fimbriaların merkezi rolü antimikrobiyal tedavi ve aşı geliştirme için onları mantıklı hedefler haline getirir. Purifiye fimbrialar, hayvanlar üzerinde kullanımda yıllarca etkili ve esaslı aşı olarak kullanılmıştır. İlk etkili fimbrial aşılarından biri, domuzlarda ishale neden olan *E. coli* suşlarında bulunan K-88 antijeni temellidir. Fimbrialarla immunizasyon, purifiye fimbrialar, rekombinant olarak ekprese

edilmiş fimbrial adezin subunit, canlılığı azaltılmış *Shigella flexneri* suşları ve heterolog fimbria veya fimbria subunitleri kullanılarak başarılmıştır (Langermann ve ark, 2000). Fimbrialar adezyondan sorumlu en önemli bakteri yüzey adezinleri ya da ligandları olarak bilinmektedir. Her bakteride uç kısımlarında adezin bulunan, 100-200 fimbria taşıyabilir. Elektron mikroskopisi ve eritrosit aglütinasyonu yöntemleri kullanılarak farklı morfolojik ve fonksiyonel özelliklere sahip birçok fimbria tipi tanımlanmıştır. Ancak bazı bakteri türlerinin fimbria olmaksızın da adere olabildikleri gösterilmiştir. Üzerinde en çok çalışılan üropatojen olan *E. coli*'nin fimbriaları adezin proteinlerinin reseptör özgüllüklerine göre sınıflandırılmaktadır (Tunçkanat, 1993).

2.4.1.1. Mannoza Duyarlı Fimbria: Tip 1 Fimbria

Tip 1 fimbria tüm *Enterobacteriaceae* familyasında bulunan bakterilerin sahip olduğu ince, sert ve tutunma organelleridir. Bunların tutunma özelliği *fimH* adezinden ileri gelmektedir. *FimH* adezin idrar yolu sistemi yüzeyinde olduğu gibi memeli konak dokularında bulunan mannoz içeren glikoproteinleri tanır. Bu da bakterinin hedefe tutunarak üroepitelde kolonize olmasını sağlar (Schembri ve ark, 2005). Kobay eritrositlerini aglutine etme özelliğine sahip olup bu olay ortamda mannoza bulunması ile inhibe olur. Bu nedenle bu tip fimbriaya Mannoza Duyarlı Fimbria adı da verilmektedir. Birçok *E. coli* izolatında tip 1 fimbria ya da tip 1 fimbriayı eksprese etme kapasitesi vardır. Tip 1 fimbrianın biyolojik rolünün bakterinin kolon mukozaasına adezyonunu sağlamak olduğu öne sürülmüştür (Tunçkanat, 1993). Tip 1 fimbria enfeksiyonların başlangıç aşamasında çok önemlidir. Yapılan bir çalışmada tip 1 fimbrianın özellikle enfeksiyondan 24 saat sonra mesanede ciddi şekilde bulunduğu belirlenmiştir (Synder ve ark, 2005). Tip 1 fimbriaların üroepitelyal hücrelere tutunmadaki rolleri ile ilgili çelişkili çalışmalar vardır. Bir takım çalışmalarda mannoza duyarlı *E. coli*'lerin üroepitelyal hücrelere tutunmalarının çok zayıf olduğu, oysa bu epitelyal hücrelere gayet iyi adere olabildikleri öne sürülürken, bunun tersi bazı çalışmalarda üroepitelyal hücrelerde önemli bir Tip 1 fimbria aderansının varlığı gösterilmiştir. Bu çelişkili sonuçlar kullanılan yöntemlerin farklılığından ileri gelebilir. Poliklonal antikor ve immün boyama yöntemleri kullanılarak alt üriner sistem enfeksiyonundan izole edilen *E. coli* suşlarının idrarda in vivo olarak tip 1 fimbria sentezlediği gösterilmiştir. Tip 1 fimbria ayrıca *E. coli*'nin insan üreteral mukoza epitel hücrelerine ve idrarda normalde bulunan Tamm-Horsfall proteini ya da üro-mukoide

tutunmasını da sağlamaktadır. Üriner sistemde bakteriyel adezyonda da yine tip 1 fimbria ekspresyonunun esas rolü oynadığı düşünülmektedir. Mannoza duyarlı adezinler salgısal IgA'da bulunan mannoz ile de etkileşime girmektedirler. Tip 1 fimbrianın mannoza duyarlı oluşu, D-mannoz içeren glikoproteinlerin oligosakkarid kısımlarının bu fimbria için reseptör oluşturabileceğini düşündürmüştür. Üriner sistemde de D-mannoz reseptörlerinin yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir. Tip 1 fimbria yapan *E. coli* suşlarının üro-mukoide kuvvetle adere olmasında bu maddenin mannozdan zengin oluşu rol oynamaktadır (Tunçkanat, 2003). Tip1 fimbria spesifik D-mannoz glikoprotein içeren reseptörlere bağlanmaktadır. Tip1 fimbria üroepitel dışında; memeli bukkal mukozaya, intestinal epitel hücrelerine, akciğer ve bronş epiteline, böbrek proksimal tubül hücrelerine ve Tamm-Horsfall protein ve sekretuvar IgA gibi salgılanabilen glikoproteinlere de bağlanabilmektedir (Erdem, 1999).

2.4.1.2. P Fimbria

1970'lerin ikinci yarısında akut piyelonefritli hastalardan izole edilen *E. coli* suşlarında gösterilmiştir. Üriner sistem epiteline yapışma yeteneği vardır. İlerleyen yıllarda bu karakterizasyonu hücre yüzeyindeki P tip adezinlere bağlandığı görülmüştür. P fimbria, insan eritrositlerini aglutine etme özelliğine sahip Mannoza Dirençli bir fimbriadır. P fimbria olarak adlandırılmasının nedeni, özgül olarak eritrosit ve üroepitelyal hücrelerdeki P kan grubu antijenlerine bağlanmasıdır. Bu tip fimbria ancak bazı *E. coli* suşları tarafından belirli çevresel üreme koşullarında yapılır. P fimbrialar üromukoide yapışmazlar ancak üroepitelyal hücrelere yüksek kapasite ile adere olurlar (Tunçkanat, 1993). P fimbria, *pap* ya da piyelonefrit ile ilişkili pilus olarak kodlanmıştır (Synder ve ark, 2005). Ve bu pilusu bir veya daha çok PAIs denen patojenite ilişkili bölgeler denilen mobil genetik elementler taşımaktadır. Bu P fimbria yapısı hem tip ilişkili protein *papE* hem de tip proteini *papF* gerektirir ve üroepitelyal hücrelerdeki Gal á (1-4)Gal reseptörlerine bağlanan bir reseptör üretirler. P fimbria özellikle *papG* adezini, piyelonefrit ile ilişkili virulans faktörlerinde önemlidir (Drews ve ark, 2005). P fimbrianın yapısı oldukça kompleks olup, birkaç farklı fimbrial antijen olarak eksprese edilmektedirler. Hem mannoza duyarlı hem mannoza dirençli fimbrialar aynı bakteri suşu üzerinde bulunabilirler. Özel bir grup glikosfingolipid, P fimbria için reseptör rolü oynamaktadırlar. Bu glikolipidlerin Gal á 1-4 Gal betafraksiyonu P fimbria için özgül bağlanma bölgesidir.

Gal á 1-4 Gal beta reseptörleri; toplama kanalları, renal pelvis, üreter, mesane ve vagina epitellerinde mevcut olup, polimorf nüveli lökositlerde bulunmaz. Bunlar insan P kan grubunda bulunan globosit dizisinin nötral glikolipitlerine bağlanırlar. Nefritojen *E. coli*'ler ile alakalıdır. P fimbria UPEC'lerde ikinci sırada en çok görülen virulans faktörüdür. Bunlar idrar yolu enfeksiyonları patogeneğinde ve piyelonefritte önemli olup, piyelonefritik *E. coli* izolatlarının %80'inde tanımlanmıştır (Kucheri ve ark, 2005). *E. coli* bakteriürisinin oluşması için bakterinin mesane mukozasına tutunması çok önemli bir adımdır. *pap* geni tarafından kodlanan P fimbria virulans faktörleri olarak değerlendirilirken mekanizması ise daha tartışmalı bir konudur (Synder ve ark, 2005). P fimbrialar ince flexible fibriler uçlu sert sarmal bir çubuktan ibarettir ve eşlik eden bir öncü yardımcı yolla toplanırlar. Adezin subunit *papG* fibriler ucun sonunda lokalizedir.

Çomak benzeri, tipik fimbrial organeller α -, γ -, π - fimbrial clade'lerde bulunur. π clade'ine ait UPEC P ve γ_1 clade'ine ait tip 1 pili, α clade'ine ait enterotoksijenik *E. coli* CS1 fimbria örnek oluştururlar. Bunlar tipik olarak 7-10 nm kalınlığında rijit pili oluştururlar ve sıklıkla çoklu alt ünitelerden oluşan dörtlü bir organizasyon gösterirler. Örneğin p pili en az 6 farklı subunitten oluşur. Bu alt üniteler de 2 farklı kombinasyon oluştururlar. Distalde 2 nm kalınlığında fleksibl fibrillum ve onun proksimalinde rijit 6-8 nm genişliğinde pilus. Bu pilusa *papA* denir. P pilus çubuğu >1000 kopya *papA* subunitinden oluşur. *papA* homopolimeri sağa doğru kıvrılarak yükselen, 2.5 nm yüksekliği olan, her turunda 3.3 alt ünite içeren bir yapıdır. P pilus fibrillumuna *papG* denir, spesifik adezin molekülüdür. Tek bir kopyası vardır. Binden fazla homopolimerden oluşur. *PapG*'yi pilusa bağlayan 5-10 alt ünitelerden oluşan flexible yapıdaki *papE* alt ünitesi yer alır. Bunlara ek olarak *papF* ve *papK* adında 2 alt ünite daha vardır. *PapF*, adezin ile *papE* arasındaki bağlantıyı sağlarken, *papK* ise *papE* ile *papA* arasındaki ilişkiyi sağlar. Son olarak, altıncı pilus sub ünitesi *papH*'dir. *papA*, polimerizasyonunu durduran, pilus büyümesini önleyen terminal subunittir (Verger ve ark, 2006).

Bu subunitlerden bağlanmadan sorumlu olan adezin, *papG* adezini P fimbrianın alt ucunda bulunur, *pap* operon tarafından kodlanır. Üroepitelyal hücrelerdeki özgül reseptörlere bağlanarak hastalığın gelişmesine katkı sağlar. Reseptör özelliğine göre *papG* adezini 3 farklı varyantı veya sınıfı (allel I, allel II, allel III) bulunur. Çeşitli hastalıklarla G adezinini kodlayan özgül allelik genlerle aralarında bir ilişki vardır.

PapG'nin üç sınıf veya allelinin her biri Gal-Gal globoseri glikolipidler için farklı bir bağlama özgüllüğüne sahiptir ve bu yönüyle doku tropizmine katkıda bulunur. Akut piyelonefrit ve ilk defa sistit geçiren hastalardan elde edilen izolatlarda sınıf II *papG* en

yaygın alleldir. Sınıf II, insan üst üriner yolunda yaygın olarak bulunan Gal-Gal globozid GbO_4 'e bağlanır (Johnson ve ark, 1991). Ayrıca GbO_4 'ün sakkaridleri tanıma, dolayısıyla etkileşimde daha ileri spesifite (özellik) için önemli oldukları gösterilmiştir. *PapG* II'nin bağlı olmayan formu yanında GbO_4 'e bağlı formunun kristal yapısı da çözümlenmiştir. Sınıf III adezin genellikle insan sistit izolatlarında nadiren piyelonefrit izolatlarında bulunur. Sınıf III adezin GbO_5 (Forssman antijeni) ve globoA'yı tanıyabilir. Sınıf III adezinli izolatlar genellikle üroepitelyal hücrelerinde globoA taşıyan salgı (+) bireylerde meydana gelir (Sung ve ark, 2001).

P fimbrialar, üropatojen suşlarda sıklıkla bulunur. Onlar, intestinal yolda daha uzun süre kalma, kolonizasyon ve asendan enfeksiyon üretmek için üriner yola daha etkili yayılmayı içeren enfeksiyonun farklı aşamalarında üropatojenik *E. coli*'nin virulansını arttırmaları (Wullt ve ark, 2001). Üriner yolda oldukları zaman P fimbriyalı suşlar tutunur, yapışır, bunda ısrar eder ve artmış epitelyal sitokin cevabına rağmen böbreği istila eder ve bakteremiye neden olur. *pap* geninin *EFG* dizinleri adezin kompleksini kodlar. I'den IV'e kadar *papG* allelleriyle kodlanan *papG* adezin'in üç moleküler varyantı, klinik sonucu etkileyen ince reseptör bağlama özellikleri gösterirler. Allel II, piyelonefrit ve bakteremiye neden olan suşlar arasında en çok iken, allel III sistitli çocuk ve kadınlarda en yaygındır. *PapG* bağımlı tutunma-yapışma, TLR-4 aracılığıyla olan doğal konak cevabını (epitelyal sitokin cevabını) tetikler (Bergsten ve ark, 2004).

P fimbriaların ayrıca üropatojen *E. coli* klonlarının kolona yerleşme ve perineye yayılma kabiliyetlerini arttırdığı görülmektedir. Nötrofillerle fagositoza göreceli olarak dirençli olmasına rağmen, P fimbriyalı *E. coli*, paradoksal biçimde proinflatuar sitokinlerin hazırlanmasını uyarak konak inflamasyon cevabını artırır. Nötrofillerde P fimbria reseptörleri yoktur. P fimbriyalı *E. coli*, özellikle kan izolatları arasında piyelonefrit ve ürosepsisin nedeni olarak başta gelir. Bununla birlikte, böbrekte olduğu zaman, bakteride P fimbria ekspresyonunun down regülasyonu meydana gelebilir, bu da parankimal persistansı kolaylaştırır (Hedges ve ark, 1995).

P fimbrianın, üroepitelyal hücrelere, disakkarid α -D-galaktopyranosyl-(1,4)- β -D-galactopyranose (Gal-Gal) içeren globoseri glikolipidler (GSL) olan P kan grubu antijenlerine bağlandıkları gösterilmiştir. Minimal reseptör grubu olan Gal-Gal, P fimbriyalı bakterilerin üroepitelyal hücrelere yapışmasını engelleyebilir (Svanborg-Eden ve ark, 1982). Yüksek P1 kan grubu antijen ekspresyonuna sahip bireylerde, tekrarlayan üriner yol enfeksiyonu ve piyelonefrit diğerlerine göre daha sık görülür (Lomborg ve Eden, 1989).

İnsan üriner sistem enfeksiyonu için P fimbrianın önemi, in vitro veya in vivo adeziv özellikleri olmayan non patojenik bir izolat olan *E. coli* 883972'nin izogenik suşlarını kullanan insan klinik vakalarında kullanılarak gösterilmiştir. Orijinal suştan sadece P fimbria üretimi olmamasıyla ayrılan *E. coli* 83972'nin izogenik suşlarının intraveziküler inokulasyonu ile infekte edilen hastalarda yapılan çalışmalar, p fimbria varlığının üriner yolda *E. coli*'nin ilk yerleşmesini arttırdığını göstermiştir (Wult ve ark, 2003).

2.4.1.3. S Fimbria

S fimbria; terminal sialyl-galactosid kalıntılara bağlanması spesifik olduğu için bu isim verilmiştir. S fimbria adezinlerinin üyeleri sıklıkla ekstraintestinal *E. coli* suşlarında erkeklerde görülür. S fimbrianın sfa I ve sfa II; F1C-fimbria (Foc) ve S/F1C-ilişkili fimbria alt tipleri vardır. Tüm üyelerde tanımlayıcı gen kodlayan proteinleri ve determinantları yüksek oranda benzerdir. Bununla birlikte onların reseptörleri ve doku spesifitesi farklıdır. S fimbrial adezinleri tanımlayan α -sialyl-2-2 α -lactose içeren reseptörler yaygın olarak sepsis ve menenjit nedenidir fakat ayrıca üriner sistem enfeksiyonu izolatlarında görülür. Oysa F1C fimbrial adezinler α -GalNac-1,4- α -Gal içeren yapılar tercihen üriner sistem enfeksiyon izolatlarında belirtilmiştir. UPEC suşlarında öncelikle Tip 1 Fimbria, P fimbria ve S fimbria adezinleri görülür (Svenson ve ark, 2003).

2.4.1.4. Dr Fimbria

Dr adezin ailesi, fimbrial adezinler olan Dr adezinlerini ve non-fimbrial olan Afa-I, Afa-II, Afa-III, Afa-IV, Nfa-I ve Dr-II adezinlerini içermektedir (Mulwvey, 2002). *E. coli* tarafından sentezlenen komplement düzenleyici proteinler ile epitelyum hücrelerine bağlanarak etki gösterirler. Bu fimbrialar daha çok sistitis ve pyelonefritis olgularından sorumludurlar (Kucheri ve ark, 2005). Dr adezinleri ayrıca O75X adezinlerini de barındırmaktadır. Ayrıca bunlar, renal interstisyum, Bowman kapsülü, tubulus bazal membran hücreleri, transisyonel epitel ve idrardaki ekfoliyatif epitel hücrelerine bağlanmaktadır (Johnson, 1991).

2.4.2. Ekzotoksinler

Ekzotoksinler, bütün aerobik ve bazı anaerobik Gram negatif bakterilerde var olan bir virulans faktörüdür. Bu toksinin aktivitesi lipopolisakkaridin lipid A komponenti ile ilişkilidir. Lipid A, hücre duvarının parçalanması ile meydana gelir, makrofajların sitokin oluşturma ve salgılamasını arttırarak etkisini ortaya koyar (Erdem, 1999).

2.4.3. Siderofor

Tüm hücreler için en önemli temel minerallerden birisi demirdir. *E. coli* demiri pek çok amaç için; başta DNA sentezi, oksijen transportu ve elektron transportu, oksijenin depolanması peroksit metabolizması için kullanmaktadır. *E. coli*'de demir kazanımı için en etkili sistem, siderofor aerobaktin sistemidir. Bu sistem, iki lizin ve bir sitrat molekülünden oluşan küçük bir moleküldür ve aerobaktin, bakteri tarafından salgılandıktan sonra, en önemli görevi, demiri, konakçının demir bağlayan ve hücre duvarı reseptör proteinlerinden ekstre eder. Siderofor sistem enterobaktin ve aerobaktini de kapsar (Lane ve ark, 2005).

2.4.4. Hemolizin

Bakteriyel hemolizinler bir grup ekstraselüler sitotoksik polipeptid olup, eritrositleri sitolize uğratırlar. Alfa hemolizin ve beta hemolizin olmak üzere iki türü vardır. Alfa hemolizin ısıya karşı hassas bir proteindir ve hücre dışında bulunmaktadır. Daha çok bağırsak dışı enfeksiyonlarından izole edilen suşlar tarafından ve idrar yolu enfeksiyonlarında üretilmektedir. Bunlar por oluşturan sitolizinler olup, transmembran iyon gradientlerini yavaşlatmak aracılığıyla eritositlerin lizisine sebep olur. Hücrelerden çıkan demir de siderofor sistemleri yoluyla bakteriler tarafından kullanılır. Beta hemolizin ise alfa hemolizin ile aynı hemolitik aktivite aynı seviyede hücre ile ilişkili hemolizinlerdir (Murray ve ark, 2005).

2.4.5. Sitotoksik Nekrotizan Faktör

Sitotoksik nekrotizan faktör (CNF)-1, üropatojenik *E. coli*'lerde en iyi tanımlanmış olan virulans faktörlerinden biridir. Kromozomal olarak kodlanan CNF-1, sıklıkla alfa hemolizin ile beraber üretilir. Üriner sistem enfeksiyonlarında CNF-1'in spesifik rolü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Genel olarak CNF-1 üretimi üriner sistem enfeksiyonunu tetiklemekte, ayrıca, konakçı hücre fonksiyonlarında ve morfolojisinde bozukluklar, hücre siklusunun durdurulması ve hücre lizisine neden olmaktadır. Deneysel amaçlı olarak yapılan çalışmalarda çeşitli ve çok sayıda histopatolojik değişikliklere sebep olduğu, fakat bakteriyel kolonizasyonla ilişkili olmadığı gözlenmiştir. CNF-1, idrar kesesi epitel hücrelerine invazyon ve tutunmayı sağlar, nötrofil lökositleri öldürme kapasitesini artırır, yangısal reaksiyonlara neden olur ve üriner sistem epitel hücrelerini apoptozis mekanizması ile öldürür (Johnson, 1991; Johanson, 2003).

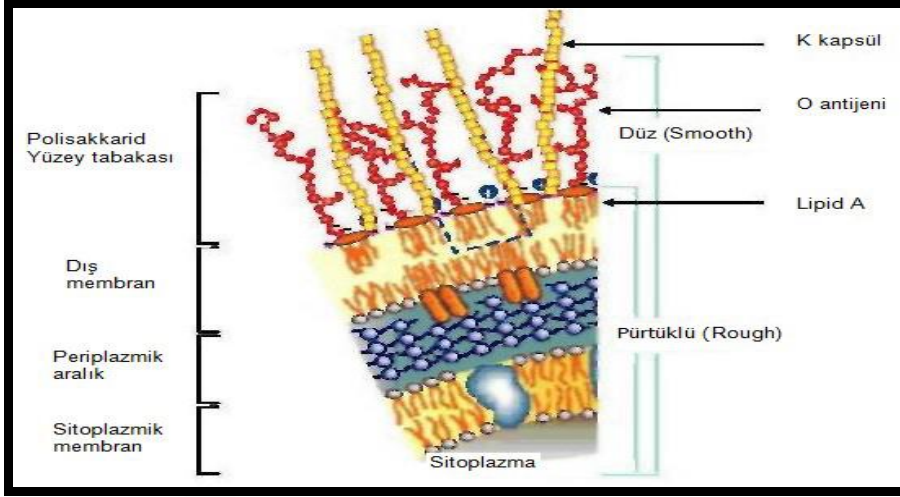
2.4.6. Serum Direnci

Bakterilerin en önemli öldürülme mekanizmalarından bir tanesi, normal serumda bulunan komplement sistemi aktivite edilmesidir. Antikor bulunmadığında komplement sistemin klasik yolunu lipid A aktive eder. Hücre duvarında bulunan bir molekül olan lipid A bakterinin önemli hücre duvar komponentlerinden birisidir. Serumun bu öldürücü etkisine karşı bakterilerin duyarlılığı iki yolla belirlenebilir. Bunlar, serum inkubasyonundan sonra bakterilerin tekrar üremeleri veya dilüe edilmiş serum konsantrasyonlarında üretilmelerine bakılmasıdır. Yapılan çalışmalarda, 1/16'dan büyük olan serum dilusyonlarının bakterilerin ölümüne sebep olan komplement aktivitesi için yetersiz bildirilmiştir (Johnson, 1991).

2.4.7. Kapsül

Hücrenin dışında ek bir koruyucu tabakadır, vücudun koruma mekanizmalarının bakteriyi tanımasını ve imha etmesini engeller. *E. coli*'lerin bazı kökenlerinde kapsül veya mukoid madde sentezi olmamasına karşın, kapsülle aynı nitelikte fakat serolojik olarak

ortaya konabilen, bakteri yüzeyine yakın yerleşmiş ve antijenik yeteneği olan yapılara rastlanılmaktadır ki bunlar kapsül olarak isimlendirilirler (Şekil 2).



Şekil 2. *E. coli* kapsülünün yapısı

E. coli'nin kapsül yapısı polisakkarid zincirlerinden oluşmaktadır. *E. coli*'nin antijenite ve virulansı ile yakından ilgili olan kapsül (K) antijenini, hücre duvarı veya somatik O antijeni örter. Bundan dolayı, mikroorganizmalar O antiserumlarıyla aglutine edilemezler. *E. coli*'de K antijenleri, A, B ve L olmak üzere 3 antijenik türe ayrılmaktadırlar. Ayrıca, *E. coli*'ler K antijenleri baz alınarak da sınıflandırılmışlardır (K1, K2, K3,.....K80 gibi). *E. coli*'nin kapsül yapısı hücre yüzeyi ile fagosit hücrelerinin temasını engelleyerek veya bakteri yüzey moleküllerini örterek, fagositozuna engel olur. *E. coli* K1 suşunun siyalik asit kapsülü ise konak dokusuna yakın yapıda olmasından ötürü immunojenik cevap meydana getirmemektir (Töreci, 2002) K ve H antijeninin ortaya çıkması *E. coli*'nin genetik kontrolü altındadır. Bu iki antijen alternatif olarak eksprese olur. Bu da bakteriyi antikor aracılı hücre ölümünden korur (Todar, 2015).

2.5. *E. coli*'nin Yol Açtığı Enfeksiyonlar

E. coli memelilerin ve kuşların bağırsak florasında doğal olarak bulunan bir mikroorganizmadır. Florada bulunan bu mikroorganizma, burada diğer flora bakterilerini ile bir denge altında kaldığı sürece hastalık yapmaz. Normal koşullarda kokuşma, mayalaşma dengesinin düzenlenmesinde ve beslenme ile ilgili bazı hususlara yardımcı olur. Ancak belirli koşullar altında *E. coli* insan ve hayvanlar için patojen olup gerek yangı gerekse sürgün şeklinde ortaya çıkan bağırsak hastalıklarına etken olur. Bağırsak kanalı

dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ve çeşitli klinik tablolara yol açmaları sık görülen bir durumdur. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları, akciğer, periton ve menenjlere ulaşan *E. coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar. Organizmanın normal savunma gücünün azalması örneğin yeni doğanlarda, yaşlılarda, diğer hastaların terminal safhalarında, immünoşüpresyon durumlarında vena ve üretra kateterizasyonlarından sonra koliform bakterilerin doku ve kana yayılması için gerekli koşullar ortaya çıkar (Bigehan, 2000).

2.5.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Üriner sistem enfeksiyonları, insanların hayatları süresince en çok yaşadıkları ve hastaaneye başvurma nedenleri olan enfeksiyonlardır. ÜSE; patogeneziye göre (örn: obstrüksiyon), yerleşimine göre (örn: uretrit, sistit) veya tedavisine göre (örn: ilk enfeksiyon, reenfeksiyon, relaps, vs.) sınıflandırılabilir. Fakat daha çok üst ve alt üriner sistem enfeksiyonları olarak tanımlanması klinik prezentasyon, patofizyoloji ve tedavi için faydalıdır. ÜSE semptomatik ve asemptomatik veya basit ve komplike (altta yatan anatomik veya fonksiyonel anomali mevcuttur) olarak da gruplandırılır (Brumfitt ve ark, 1998).

Üriner sistem enfeksiyonların çoğunluğunun tek bir mikroorganizma ile oluşmaktadır. ÜSE'de *E. coli*'yi *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp. takip eder. Koagülaz negatif stafilokoklar çoğunlukla kontaminan olarak kabul edilmekle birlikte, *Staphylococcus saprophyticus*, özellikle bahar ve yaz aylarında, cinsel yönden aktif genç kadınlarda sık görülür ve akut sistit ataklarının %5-15'inden sorumludur (Stamm ve Stapleton, 2004). *E. coli*; basit üretrit, semptomatik sistit, piyelonefrit ve sepsis gibi ağır tablolara da sebep olabilir. Komplike olmayan sistit ve pyelonefrit vakalarının %80'inden çoğundan sorumlu mikroorganizma *E. coli* olup, özellikle belirli serotipleri ile daha çok karşılaşılmaktadır. Üropatojen *E. coli* olarak isimlendirilen birkaç O serotipi (2, 4, 8, 18ab, 75, 150) bu enfeksiyonların büyük çoğunluğunda rolü vardır (Kaper ve ark, 2004).

En yüksek ÜSE insidansı 20 ile 40 yaş arasında, genç, cinsel yönden aktif kadınlarda görülür. Kadınların en az %20'si senede en az bir kez üriner sistem enfeksiyon atağı ile karşılaşmaktadırlar. Benzer yaş grubundaki erkeklerde komplike olmayan ÜSE

oranı %0.5'tir ve daha çok homoseksüel, sünnetsiz veya HIV enfeksiyonu olan kişilerde rastlanır (Nicole, 2001).

Komplike üriner sistem enfeksiyonları için predispozan faktörler:

- 1)Tıkanıklık (malformasyon, taş, v.s),
- 2)Yapısal bozukluklar (norojen mesane, Prune Belly Sendromu),
- 3)Metabolik hastalıklar (hiperkalsiuri, hipopotasemi, diyabet, hiperurisemi),
- 4)Travma, ameliyat,
- 5)Papiller nekroz, polikistik bobrek, orak hücreli anemi gibi bobrek yapısını bozan hastalıklar,
- 6)Bağışıklık sistemin baskılanmış olması, yeni antimikrobiyal kullanımı, kortikosteroid kullanımı,
- 7)Üriner sistem kateterizasyonu,
- 8)Sistoskopi ve diğer urolojik işlemler (Stamm ve Stapleton, 2004).

ÜSE'lerin neredeyse tamamı assendan enfeksiyonlardır. Fekal kaynaklı floradan gelen bakteriler periuretral alanda kolonize olarak üretradan mesaneye çıkarlar. Nadiren hematogen yolla üriner sistem enfeksiyonu ortaya çıkabilir. Lenfatik yol ve direkt yayılımın da ÜSE patogeneğinde etkili olduğu bilinmektedir (Stamm ve Stapleton, 2004).

2.6. *E. coli* Enfeksiyonlarında Kullanılan Antimikrobiyaller

E. coli'nin neden olduğu enfeksiyonlarının tedavisinde en çok kullanılan antibiyotikler kinolonlar, aminoglikozidler, beta laktamlar, trimetoprim/sulfametoksazol, fosfomisin ve nitrofurantoin'dir. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), *Enterobacteriaceae* cinsi mikroorganizmalar üzerine etkili olan antibiyotikleri kullanımlarını düzenleyebilmek için dört grupta sınıflandırmıştır. Buna göre tedavide en çok kullanılan veya birinci seçenek Grup A'da bulunan antimikrobiyallerdir. Eğer konakta bu gruptaki antimikrobiyallere karşı herhangi bir direnç oluşmuş ise diğer grup olan Grup B'deki antimikrobiyaller tedavide amacı ile kullanılabilir. Aynı şekilde eğer Grup B'deki antimikrobiyallere karşı direnç gelişimi söz konusu olursa bir diğer grup olan Grup C'deki antimikrobiyaller ile tedaviye devam edilmelidir. Bir diğer grup olan Grup U'daki antimikrobiyaller ise yalnızca ÜSE'da tercih edilmelidir (Tablo 3) (Wayne, 2012).

Tablo 3. *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antimikrobiyaller

Grup A	Grup B	Grup C	Grup U
Ampisilin	Amikasin	Aztreonam (ATM) Seftazidim (CAZ) (ESBL belirleyicisi)	Lefloksasin veya Ofloksasin Norfloksasin
Sefazolin Sefalotin	Amoksisilin/Klavulanik asit Ampisilin/Sulbaktam Piperasilin/Tazobaktam Tikarsilin/Klavulanik asit	Kloramfenikol	Nitrofurantoin
Gentamisin Tobramisin	Sefuroksim	Tetrasiklin	Sulfisaksazol
	Sefepim Sefoksitin Sefotaksim (CTX) veya Seftriakson (CRO) Siprofloksasin, Levofloksasin Ertapenem, İmipenem, Meropenem Piperasilin Trimetoprim/Sulfametaksazol		Trimetoprim

2.6.1. Beta Laktamlar ve Etki Mekanizması

Beta laktamlar sık olarak tercih edilen bakterisid etkili ve toksisiteleri oldukça düşük antibiyotiklerdendirler. Bu antimibiyotikler arasında; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve beta laktamaz inhibitörleri yer almaktadır. Bu gruptaki ilaçların en önemli özellikleri yapılarında beta halkası laktam adı verilen 4 atomlu halka bulundurmalarıdır. Her grup beta laktamın özelliği, bu halkaya bağlanan başka halkalar ve yan zincirlerle belirlenir. Beta-laktam grubu antibiyotiklerden olan monobaktamlarda beta laktam halkasına bağlanan başka halka mevcut değildir. Beta laktamaz inhibitörleri aslında birer beta laktam olmakla birlikte tek başlarına antibakteriyel özellikleri pek yoktur. (Özsoy ve ark, 2001). Bakteri hücre duvarının en önemli polimeri olan beta laktamlar peptidoglikan sentezini inhibe ederek etkisini göstermektedir. Hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakası ard arda dizilmiş N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asit (NAM) aminoşekerinin oluşturduğu bir zincirlerdir. Her zincirde ayrıca NAM'e bağlı, 4 amino asitten oluşan peptit zinciri yer almaktadır. Bu peptit zincirleri de diğer iplikçiklerdeki peptit zinciri ile birleşerek peptidoglikanın ana omurgasının oluşumuna katkı sağlamaktadır (Livermore ve Williams, 1996).

Beta laktam grubu antibiyotiklerin en önemli etkileri PBP'lerin hücredeki fonksiyonlarına, sayılarına, bulundukları bakterinin türüne bağlı olarak değişik olmaktadır. PBP'lerin bir hücredeki fonksiyonları ile ilgili çalışmalarda en çok kullanılan bakteri *E.*

coli'dir. PBP'ler bu bakteride hücrenin hayatta kalmasında bir taraftan önemli fizyolojik görevleri yaparken diğer taraftan da beta laktamlar için de öldürücü hedefleri oluşturmaktadır. Bu proteinler hücrede transpeptidaz olarak görev almaktadır. PBP'ler bir şekilde beta laktamlarla bloke edildiklerinde, bu PBP'ler bakterinin gelişmesinde uzama faktörü olarak görev aldıklarından, bakterinin büyümesinin yavaşlamışına ve durmasına sebep olmaktadır. Bunlardan hücrenin uzamasında en çok önem taşıyan PBP 1b'dir. PBP 2, beta laktamlarla bloke edildiğinde bakterinin çomak şekli değişmekte, küresel şekil almakta ve eğer daha uzun süre ve daha yüksek konsantrasyonlarda bekletilirse bakteri parçalanmaktadır. PBP 3 ise septal peptidoglikan sentezinden sorumlu olan bir transpeptidazdır. PBP 3, beta laktamlarla bloke edildiğinde bakteri bölünemez ve şeklinde değişiklik olarak iplikcik şeklini alır. Düşük molekül ağırlıklı PBP'lerden olan PBP 4, 5 ve 6 özellikle karboksipeptidaz aktivitesine sahip olup, hücrenin hayatta kalmasında ve yaşamsal aktivitelerinin sürdürülmesinde diğer büyük molekül ağırlıklı PBP'ler kadar önemli arz etmemektedirler. PBP 4, ayrıca endopeptidaz ve transpeptidaz aktivitesinden de sorumludur. PBP 7 ise bakterinin yaşamsal fonksiyonlarının yavaşladığı dönemlerde sırasında transpeptidaz aktivitesine sahip bir hedef haline gelebilmektedir (Livermore ve Williams, 1996).

Beta laktamların bakteri hücresinde lizise sebep olmasında mikroorganizmanın peptidoglikanını hidrolize eden enzimlerinin de görevleri bulunmaktadır. Bakteri büyürken bir taraftan yeni peptidoglikan molekülleri oluştururken, diğer taraftan yeni peptidoglikanların hücre duvarına eklenmesi, mevcut çapraz bağlarının hidrolize edilerek açılmasına bağlıdır. Bakterideki bu hidrolazların etkisi ile peptidoglikan molekülündeki çapraz peptit bağlarının hidrolizasyonu gerçekleşmektedir. Fakat ortamda beta laktamlar varsa, bunlar ilgili enzimlere bağlanarak yeni gelişen hücrelerde yeni peptit bağlarının oluşmamasına, hücre duvarının yapısının bozulmasına neden olmaktadır (Mims ve ark, 1993).

2.6.2. Aminoglikozidler ve Etki Mekanizması

Tüm aminoglikozid antibiyotikler 6 üyeli bir aminosiklitol halkasından oluşmaktadır. Aminosiklitol halkasına glikozidik bağlarla bağlı şekerler mevcuttur. Ancak spektinomisin yapısında aminoşeker ve glikozidik bağ bulunmamasıyla diğer aminoglikozidlerden farklıdır. Aminoglikozidlerin en önemlileri arasında streptomisin,

amikasin, neomisin, kanamisin, gentamisin, tobramisin, dibekasin, netilmisin, isepamisin, ve spektinomisinler bulunmaktadır (Gilbert, 2005).

Aminoglikozidlerin etkisi multifaktoriyel olup birkaç aşamadan oluşmaktadır. Bu basamaklardan ilki hücrenin dış yüzeyi ile iyonik etkileşimdir. Bu olay elektrostatik ve oldukça hızlı bir olay olup pasif olarak gerçekleşmektedir. Aminoglikozidler Gram negatif bakteri hücre duvarında lipopolisakkaridlere, fosfolipidlerin polar başlarına ve dış membran proteinlerine bağlanarak kompetitif olarak Mg^{+2} ve Ca^{+2} iyonlarını bulundukları yerlerinden oynatıp; bunun sonucunda hücre duvarının geçirgenlik fonksiyonu bozarlar. Bu sebeple aminoglikozidler bakterisid etkili olan antimikrobiyaller içerisinde yer alırlar (Gilbert, 2005). Aminoglikozidler, 30S ribozomlarında 16S A bölgesine geri dönüşümsüz olarak bağlanırlar. Streptomisin sadece 30S alt birimine bağlanır ancak, diğer antimikrobiyaller buna ilaveten 50S alt birimine de bağlanırlar. Burada mRNA'nın kodon ve tRNA'nın antikodonlarının yanlış okunmasına sebep olarak daha sonraki antimikrobiyal transport fazının hızlanmasına ve membran hasarına sebep olurlar ve böylece aminoglikozidlerin letal etkisi ortaya çıkar (Gilbert, 2005).

2.6.3. Kinolonlar ve Etki Mekanizması

Kinolonlar 1960'lı yıllardan beri kullanılan en eski ilaçlardan olup; insanoğlunun bakterilerle olan savaşında son yıllarda en çok kullanılan antibiyotikler arasında yer almaktadırlar. DNA giraz diğer adı ile topoizomera II enzimi bakteri hücresinde kromozomların önce açılıp daha sık kıvrım yapmasını sağlayan, sonra da açılan uçları yapıştıran enzimdir. Kinolon grubu antimikrobiyallerin kullanımından sonra bakteri DNA giraz enzimine bağlanırlar ve enzim fonksiyonları inhibe olur. Bunun neticesinde DNA'nın süpersarmal oluşumu engellenir, bölünemeyen bu bakteriler anormal şekilde uzayıp bir süre sonra da ölürlür. Tüm kinolonların etki mekanizmaları birbirlerine çok benzemekle birlikte etkilerinin bakteri hücrelerinde DNA sentezini bozarak göstermektedirler. Bakterisid etkili ajanlardırlar (Melli, 2004).

Bu grubun ilk üyesi, antimalaryal bir etken olan klorokin saflaştırılması sırasında elde edilen ara üründen üretilen nalidiksik asittir. Nalidiksik asit idrar yolu enfeksiyonlarında kullanılan bir antimikrobiyaldir. Gram pozitif bakterilere, *P. aeruginosa* ve anaerob bakterilere etkili değildir. Klinik kullanımı bu nedenlerden dolayı sınırlıdır. Sadece Gram negatif aerobik çomaklara etkili olup dar etki alanlı bir bileşiktir.

ÜSE'lerinde kullanılmasının en önemli nedenlerinden birisi idrarda yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmesidir (Melli, 2004). Özellikle son 20-30 yıldır kullanımda olan florokinolonlar veya 4-kinolonlar adı verilen yeni kinolon türevleri nalidiksik asitle kıyaslandığında geniş etki alanı olmakla birlikte, daha iyi invitro etkinlik ve daha iyi farmakokinetik özellikleri bulunan ve bu nedenlerle de çok değişik enfeksiyonların sağaltımlarında sıklıkla kullanılmaktadırlar (Mülazımoğlu, 1999).

2.6.4. Sulfonamidler ve Trimetoprimin Etki Mekanizması

Bakteri hücreleri nükleik asit sentezi için gerekli olan folik asidi memeli hücrelerinden farklı olarak kendileri sentez ederler. Folik asit sentezinin ilk basamağındaki para-aminobenzoik asit ile benzer yapıda olan sulfonamidler, dihidropteroat sentetaz enzimini kompetitif olarak inhibe ederek para-aminobenzoik asitten dihidropteroik asit oluşmasını engeller. Diğer antibiyotik trimetoprim ise bakterinin dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek tetrahidrofolik asit oluşmasını inhibe eder. Trimetoprim/sulfametoksazol, trimetoprim ve bir sulfonamid olan sülfametoksazolun 1/5 oranındaki kombinasyonudur. Bu kombinasyonun kullanılması bakteri metabolizmasında birbirini izleyen iki basamağın inhibisyonuna sebep olmakla birlikte; bu antimikrobiyaller tek başlarına bakteriyostatik kombinasyon halinde iken bakterisid etkilidir (Topçu, 2002).

2.7. Gram Negatif Bakterilerde Beta- Laktam Direnci

Günümüzde antibiyotikler arasında en yoğun olarak kullanılan grup beta-laktam antibiyotiklerdir. *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinin beta-laktamaz üretimi sayesinde beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişimi oldukça yaygındır. Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasını hidrolize ederler ve beta-laktam antibiyotiklerin istenen etkisinin aksine mikroorganizmaları korurlar. Bu enzimler Gram negatif bakterilerde periplazmik boşluk içinde bulunur ve beta-laktam halkasındaki siklik amid bağı parçalama özelliğinde olan enzimlerdir (Yapar, 2007).

Beta-laktamazların sayısı, çeşidi fazlaştıkça, dönem dönem farklı sınıflandırma şemaları oluşturulmuştur. En bilinen ve kullanılanı 1960'larda Richmond ve Sykes tarafından önerilmiştir. Daha sonra 1976'da Sykes ve Matthew tarafından izoelektrik

odaklamayla betalaktamazların farklılığı vurgulanarak genişletilmiştir. Yine bu şema 1989'da Karen Bush tarafından 1995'te revize edilmiştir. Hem kromozomal hem de plazmid özellikli enzimleri içeren bu sınıflandırmada önceki sınıflandırmalarda kullanılan substrat profili, moleküler ağırlığı, inhibitör profili, bağlanma afinitesi ve izoelektrik nokta, hidroliz hızı gibi özelliklere oksasilin, sefoksitin ve nitrosefinin substrat profiline ve tazobaktam'ın inhibisyon profiline katılmasıyla enzimler dört grupta toplanmıştır (Yapar, 2007).

Grup 1. Sefalosporinazlar klavulanik asit ile iyi inhibe olmazlar.

Grup 2. Genellikle klavulanat tarafından inhibe edilen en geniş grubu oluşturur. Bu enzimler penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbenisilini, karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize etmelerine göre altı alt gruba ayrılır.

Grup 3. Metallo-beta-laktamazlar etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ve *p*-kloromerkuribenzoat ile inhibe olurlar, sınıf ik betalaktamaz inhibitörleriyle inhibe olmazlar.

Grup 4. Beta-laktamazlar penisilinazlardır ve yine klavulanik asit ile inhibe olmazlar (Yapar, 2007).

Moleküler düzeydeki mekanizmalara dayanan sınıflamayı ilk olarak Ambler 1980'de yapmıştır. Bu sınıflandırmada betalaktamazlar A, B, C ve D olmak üzere dört grup olarak gruplandırılmıştır. A, C ve D grupları 'serin' enzimlerini içerirken B grubunda 'çinko' enzimleri bulunmaktadır. Sınıf A serin penisilinazları, sınıf B metalloenzimleri, sınıf C serin sefalosporinazları ve sınıf D oksasilini hidrolize eden serin betalaktamazları barındırır. Beta-laktamazlar direnç geninin kromozom ya da plazmid üzerinde bulunmasına göre iki grupta incelenir (Yapar, 2007).

Dünya genelinde yaygın olarak toplum kökenli ÜSE etkeni olan *E.coli* 'lerde amoksisiline yüksek dirence rastlanmaktadır. 2003 ECO-SENS raporuna göre; 16 Avrupa ülkesi ve Kanada'da 256 merkezli çalışmanın verilerine bakıldığında siprofloksasin direnci ortalama % 2.3 olarak bulunmuştur. Kinolon direnci en yüksek %19.3 ile İspanya ve Portekiz'de rastlanmıştır. Türkiye'de ise siprofloksasin direnci %5-20 arasında değişmekte ve ÜSE'lerin ampirik tedavisinde öncelikli tedavi olarak kullanılmaktadır (Töreci, 2002).

2.7.1. Plazmid Aracılı Beta-Laktamazlar

Plazmid aracılı beta laktamlar moleküler sınıf A ve D içinde yer alan en yaygın enzimlerdir. Mutantların ortaya çıkışından sorumlu kromozom kaynaklı genlerin, bakteriler arasında yayılmasında son yıllarda belirgin olarak *Enterobacter* ve *Citrobacter* türlerinde rastlanan sefalosporinaz üretimi *Klebsiella* spp. ve *E.coli*'de de görülmeye başlamıştır. Bu sorunun deprese mutantlardan kaynaklanmadığı, bakterilerin plazmid kaynaklı *AmpC* geni taşıdıkları ortaya konmuştur. Plazmid kaynaklı sefalosporinazlar (MOX-1, FOX-1, CMY-1, CMY-2, LAT-1, BIL-1, MIR-1) kromozomal *AmpC* sefalosporinazlarla ilişkilidir. Önce *K. pneumoniae* kökenlerinde görülen (MIR-1) beta-laktamazlar; sefoksitin, oksiiiminocefalosporinler ve aztreonam direncine sebep olurlar. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazların tersine beta-laktamaz inhibitörlerine de dirençlidirler (MOX-1 hariç).

Plazmid bağımlı beta-laktamazlar beş gruba ayrılabilir: TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri, OXA ve PSE enzimleri ve daha nadir dar spektrumlu enzimler, TEM ve SHV türevi GSBL'ler, TEM ve SHV'den kaynaklanmayan GSBL'ler ve İnhibitör dirençli TEM mutantları (Yapar, 2007).

2.7.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar

Bu antibiyotiklerin etki spektrumlarının genişliği nedeniyle, bunların hidrolizine neden olan beta-laktamazlar da “genişlemiş spektrumlu” olarak adlandırılmışlardır (Akova, 2004). GSBL ilk olarak 1983 yılında Almanya'da bildirilmiştir. 1987'de Fransa'da da bildirildikten sonra 1991 yılından itibaren de tüm dünyadan GSBL izole edildiği haberleri gelmiştir. Halen pek çok sayıda ve çeşitli GSBL enzimi ve bunların üretimini düzenleyen mekanizmalar mevcut olup, GSBL bütün dünyada hızlı bir şekilde artmaktadır (Güler, 2007). β -laktamazların adlandırılmasında şimdiye kadar çok farklı yöntemler kullanılmıştır. Bunlara örnek olarak; bazı enzimler, hedef substratlarına (IMP, OXA, vs), bazı biyokimyasal özelliklerine (NBC, SHV), bazı sahip oldukları genlere (CepA, Amp), bazı izole edildikleri mikroorganizmalara (PSE, AER), suşlara (P99), bazı hasta isimlerine (ROB, TEM), hatta hastane (RHH, MIR) veya eyaletlere (OHIO), onları bulan kişilere göre (HMS) isimlendirme verilebilir (Bush ve Jacoby, 1997). Örneğin, ilk kez *Pseudomonas* cinsi bakterilerden elde edilen PSE enzimi enterobakterilerde çok nadir bulunmaktadır. Bunun örneklerini çoğaltmak mümkündür. SHV, sülfidril variabl'dan

kısaltılmış bir isime sahipken, günümüzde SHV-1 enziminin aktif bölgesinin sülfidril değil, serin hidroksil olduğu belirlenmiştir (Livermore, 1995).

Gram negatif bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç oluşumunda temel mekanizma beta-laktamaz üretimidir. Bugün her türlü beta-laktam antibiyotik, 350'nin üzerinde değişik betalaktamazlardan bir veya birkaçı ile hidrolize edilerek etkisiz hale getirilebilir. Piyasaya yeni beta-laktam antibiyotiklerin sunulup klinikte kullanılmasıyla ve yaygınlaşması sonrası bakterilerin bu antibiyotiklerde direnç geliştirmeleri antibiyotik kullanımı ve direnç oluşumu arasındaki ilişkiyi kanıtlayan bir örnektir. Direnç gelişen antibiyotikler arasında “oksiimino aminotiozil sefalosporinler” (sefotaksim, seftriakson ve seftazidim) ve aztreonam önde gelmektedir (Akova, 2004). GSBL, mikrobiyolojik olarak oksiiimino sefalosporinleri hidrolize edebilen, klavulanik asit tarafından inhibe olabilen enzimler olarak da adlandırılmaktadırlar. Ancak son yıllarda GSBL kategorisinde kabul edilen bazı enzimlerin bu adlandırmadan farklılık gösterdiği tespit edilmektedir. Yapısal özellikler ve evölüsyon açısından GSBL'ler 9 farklı grup içinde ele alınmakla birlikte bu gruplar içerisinde en önemlileri TEM, SHV, CTX-M ve OXA'dır (Akova, 2004). Birçok GSBL, enterik Gram negatif bakterilerin plazmid kökenli beta-laktamazları olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1'den köken alır (Akova, 2004).

Köken alınan ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerden 1 ila 4'nün yerine farklı aminoasitlerin gelmesiyle GSBL'ler oluşur. Enzimin yapısında oluşan bu değişiklik, enzim-substrat ilişkisinin sağlandığı aktif bölgede yeni bir modellenmeye yol açarak geniş spektrumlu sefalosporinlerin ve aztreonamın da bu enzimlerin etki spektrumuna girmesini sağlamaktadır (Akova, 2004).

2.7.3. Sık Rastlanılan Genişlemiş Spektrumlu Beta- Laktamazlar

GSBL'ler penisilinler ve sefuroksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom, sefotaksim ve sefepim gibi oksiiiminoaminotiazolil sefalosporinleri hidroliz etmektedir. Karbapenem ve sefamisinler ise bu enzimlere dayanıklıdır. GSBL oluşturan suşlarda sıklıkla görülen beta-laktamazlar SHV, CTX-M, OXA ve TEM enzim tipleridir (Güler, 2007).

2.7.3.1. SHV Tipi GSBL

SHV'ler kromozomal yapıli bir enzimdir. Ampisilin, tikarsilin ve piperasilin'e karşı dirence geliştirmektedir. Oksimino-sefalosporinlere karşı etkisi bulunmamaktadır. Bu enzimlerde karakteristik değişiklik 238. pozisyonda glisin yerine serin girmesidir (Bradford, 2001). Bu grup enzimlerin öncüsü olan SHV-1 çoğunlukla *K. pneumoniae*'da rastlanır ve burada bulunan plazmid aracılığıyla oluşan ampisilin direncinin takriben %20'sinin nedenidir. SHV kökenli GSBL'lerin sayısı TEM kökenli olanlara göre sayıca daha az, bugünse sayı 50 adet civarındadır. SHV enzimlerden birisi olan (SHV-10) 'inhibitör dirençli' karaktere sahiptir. SHV kökenli GSBL'ler *K. pneumoniae*'den başka *Citrobacter diversus*, *P. aeruginosa* ve *E. coli*'de de bulunmuştur (Akova, 2004).

2.7.3.2. CTX-M Tipi GSBL

Fransa, Arjantin ve Almanya'da 1990'ların ilk yıllarında sefotaksime seftazidimden daha yüksek düzeyde dirençli GSBL oluşturan Gram negatif bakteriler olduğu tespit edildi. Ambler'in sınıflamasına göre, sınıf A beta-laktamazlardan olan bu enzimler sefotaksimi etkileme düzeyi daha fazla olduğundan CTX-M şeklinde isim verilmiştir. Aslında *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ve *E. coli*'de yer almasının yanısıra diğer *Enterobacteriaceae* türlerinde de bulunmaktadır. Aminoasit dizilerine baz alınarak beş ayrı grupta ele alınırlar: CTX-M-1 grubu, CTX-M-2 grubu, CTX-M- 8 grubu, CTX-M-9 grubu, CTX-M-25 grubu (Svanborg ve ark, 1982).

Betalaktamazlardan CTX-M tipi son yıllarda dünya genelinde *Enterobacteriaceae* türlerinde içinde hergeçen gün arttığı gözlenmiştir. CTX-M, sefotaksime daha yüksek aktivite gösterirken seftazidime karşı nispeten düşük aktivite sergilediği gözlenmektedir (Boyd, 2004). Günümüzde 55'ten fazla CTX-M tipi beta-laktamaz tanımlanmıştır (Bouguessa ve ark, 2006).

CTX-M beta-laktamaz enzimi üreten mikroorganizmalar sefotaksim gibi oksimino-sefalosporinlere direnç üretmesiyle öne çıkmıştır. Bu arada bu tarz enzim üreten suşların laboratuvarlarda saptanması sırasında direnç genlerinin taşınabileceği ve bulaş açısından da dikkatli olunması önemlidirler. CLSI, GSBL varlığı araştırılırken kontrol suşu da olsa klinik suşları da olsa sefpodoksimli, sefotaksim ile seftazidimli klavulanatlı saptanma ve doğrulama testleri de kullanılmasıının yararlı olacağı söylenmektedir (Pitout

ve ark, 2004). Bu tarz GSBL enzimleri genellikle substrat olarak sefotaksimi seçerler. Genel olarak *Salmonella* Typhimurium ve *E. coli*'de üretildikleri kabul edilmiş olsalarda diğer enterik Gram negatif bakterilerde de üretildikleri saptanmıştır. Otuzun üzerinde farklı tipte olan bu tür enzimler TEM ve SHV kökenli enzimlerle maksimum %40 oranında benzerlikleri bulunmaktadır. Yine 1. kuşak sefalosporinlere benzilpenisiline oranla daha çok ilgi duyarlar (Akova, 2004). Toplum kökenli enfeksiyonlu hastalarda izole edilen GSBL pozitif *E.coli* 'lerin %70'inde CTX-M tipi bulunmaktadır (Paterson, 2006). CTX-M türü GSBL'ler *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *E. coli* ve *K. pneumoniae* klinik izolatlarında bildirilmiştir. CTX-M benzeri GBSL' ler ilk kez Amerika'da bildirilmektedir (Moland ve ark, 2003). CTX-M enzimleri en çok plazmid aracılı TEM ve SHV beta-laktamazlarla %40 ve altında homoloji gösterir. *Proteus vulgaris*, *K. oxytoca*'un sefalosporinleri hidrolize eden kromozomal enzimlerinde bulunmuştur (Yapar, 2007).

2.7.3.3. OXA Tipi GSBL

OXA tip beta-laktamazlar oksasilini hidroliz etme yeteneğinden dolayı bu isimlendirmeyi almışlardır. Bu beta-laktamazlar oksasilin ve kloksasilini benzilpenisilinden %50 fazla hidroliz ederler. Bunlar baskın olarak *P. aeruginosa*'da bulunmuş ancak diğer birçok bakteride de belirlenmiştir. Gerçekte, en yaygın OXA tipi betalaktamaz, OXA-1 *E. coli* izolatlarında %1-10 arası bulunmaktadır (Paterson, 2006). OXA tipi GSBL'ler ilk başta Türkiye Ankara'da tek bir hastaneden izole edilen *P. aeruginosa*'da bildirilmiştir (Gülay, 2001). Fransa'da OXA-10'un yeni bir türevi *P. aeruginosa* izolatında bulunmuştur. GSBL OXA tipi betalaktamazların gelişimi SHV ve TEM tipi GSBL'lerin gelişimiyle benzerdir (Paterson ve Bonomo, 2005).

2.7.3.4. TEM Tipi GSBL

TEM kaynaklı GSBL'ler en sık *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de bulunmuş bunun yanı sıra, enterik ve non-enterik olan çoğu bakteride de rastlanabileceği gösterilmiştir (*Proteus* spp., *Enterobacter* spp. ve *Salmonella* spp., *P. aeruginosa*) (Bradford, 2001). Plazmid kaynaklı bilinen en eski enzim sayılan TEM-1, bakteride ampisilin, penisilin ve 1. kuşak sefalosporin direncine yol açar. TEM-1 *E. coli*'deki ampisilin direncinin %90'ının

sebebidir. TEM-1'in yapısındaki bir aminoasit değişikliği ile oluşan TEM-2'nin substrat yapısı TEM-1 ile hemen hemen aynıdır. Bu yüzden bu enzim GSBL'ler arasında sayılamaz. Fakat 12 değişik pozisyonda oluşan aminoasit değişiklikleri bugün 120'den fazla TEM kökenli GSBL'nin oluşmasına yol açmıştır. Bu enzimlerden bazıları 'inhibitör dirençli' TEM sınıfında enzimler olup, geniş spektrumlu sefalosporinleri inhibe etmediklerinden dolayı gerçek anlamda GSBL olarak kabul edilmezler (Boyd, 2004). Bahsi geçen bu enzimler isimlerinden de anlaşılacağı gibi, klasik GSBL'lerin tersine beta-laktamaz inhibitörlerinin etkilerine (özellikle sulbaktam ve klavulanat) karşı dirençlidirler. Fakat tazobaktam bu enzimleri inhibe etme özelliğindedir (Akova, 2004).

2.8. GSBL'lerin Laboratuvarı Saptanması

Laboratuvarı GSBL varlığı araştırılması birtakım problemler içermektedir. Eğer bir bakteri GSBL taşıyorsa bu bakteri geniş spektrumlu sefalosporinlerden en az birine yada aztreonama direnç göstereceği düşünülürken, invitro olarak saptanan minimal inhibitör konsantrasyon (MIK) değeri CLSI'ye göre önerilen direnç sınırlarına ulaşmayabilir (Akova, 2004). Birtakım sorunlar sebebiyle CLSI bir tarama yöntemi gerekli görmektedir: GSBL varlığının tespiti için farklı yöntemler de bulunmaktadır. Bu testler; çift disk sinerji testi, üç boyutlu test, E-test ve Vitek otomatize duyarlılık testleri olarak sıralanabilir. Bu testlere ek olarak çeşitli moleküler yöntemler de GSBL saptanması amacıyla kullanılabilir (Akova, 2004).

a.Tarama Testleri

Tarama testi olarak en çok Kirby-Bauer Disk Difüzyon Testi kullanılmaktadır.

Kirby-Bauer Disk Difüzyon Testi: DDT'nde McFarland 0.5 bulanıklığında bakteri süspansiyonları hazırlandıktan sonra petri kutularına 4 mm kalınlığında dökülmüş Mueller-Hinton Agar (MHA) yüzeyine inoküle edilir. Aralarında 2 cm olacak şekilde antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Antibiyotik zon çapları ölçüldüğünde sefotaksim ≤ 27 mm, seftriakson ≤ 25 mm, sefpodoksim ≤ 17 mm, aztreonam ≤ 27 mm olması GSBL pozitif şüphesi olarak değerlendirilir (Gür, 2008).

b. GSBL Doğrulama Testleri

Klavulanik asidin GSBL enzimlerinin aktivitesini baskılaması esasına dayanır. Bunu anlamak içinde çift disk sinerji testi, mikrodilüsyon yöntemi, kombine (modifiye) disk sinerji testi veya üç boyutlu teste tabi tutulur veya otomatize sistemlerde uygulanabilir (Gür, 2008).

Çift Disk Sinerji Testi: ÇDST aslında DDT temelli bir yöntemdir. Aynı şekilde McFarland 0,5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonu MHA'a yayılır. Bu petrinin merkezine amoksisilin-klavulonik asit diski (AMC 10+20µg) konulduktan sonra, merkezden merkeze uzaklığı 20–25 mm olacak şekilde diğer diskler (aztreonam, seftazidim, sefotaksim) yerleştirilir. $36\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 18–20 saat inkübasyona tabi tutulur. Değerlendirirken antibiyotiklere ait inhibisyon zonlarının klavulanik aside doğru genişlemesi veya iki inhibisyon zonu arasında bakteri üreyen alanda üremenin olmadığı bölge görülmesi durumlarında bakterinin GSBL ürettiği yani bu özellik açısından pozitif olduğu şeklinde yorumlanır (Resim 1). Ancak, bu yöntemle çalışılırken bazı noktalara dikkat etmede fayda bulunmaktadır. Örneğin enzim substrat profili değişik olduğu için testte indikatör antibiyotiklerin mümkün olduğunca çok kullanılması gerekmektedir. CLSI kriterlerine göre; seftazidim zon çapı 22 mm ve altındaysa, sefotaksim ve aztreonamın zon çapı 27 mm ve altındaysa, seftriakson zon çapı 25 mm ve altındaysa; kesinlikle GSBL için doğrulama testi yapılmalıdır.



Resim 1. Çift disk sinerji yöntemi. (GSBL pozitif izolatlarda amoksisilin/klavulonik asit diskinin çevresine konulan seftazidim, sefepim, sefoksitin, aztreonam inhibisyon zon çaplarının genişlemesi beta laktam antibiyotiğin aktivitesinin arttığını göstermektedir.)

Kombine (Modifiye) Disk Sinerji Testi: Bakteri konsantrasyonu McFarland 0,5 standardına uygun olarak hazırlanan süspansiyon MHA plaklarına yayılır sonra klavulonik asit bulunan ve bulunmayan CTX ve CAZ diskleri yerleştirilir. 18-24 saat 35°C’de inkübasyonun ardından klavulonik asit bulunan ve bulunmayan disklerin çevresindeki inhibisyon zonları ölçülerek değerlendirilir. Kombinasyon disklerinin çevresindeki zon, klavulonik asit içermeyen disk çevresindeki zona oranla ≥ 5 mm olursa izolat GSBL ürettiği kabul edilerek GSBL pozitif olarak kabul görür (Gülay, 2004).

Mikrodilüsyon Yöntemi: Sefotaksim ve seftazidim MİK değerleri, hem klavulonik asit olmadan hem de klavulonik asit varlığında incelenir. Klavulonik asit varken MİK değerlerinde $\geq 3 \log_2$ (8 kat) azalma GSBL pozitif şeklinde değerlendirilir (Gülay, 2004).

Üç Boyutlu Test: Disk difüzyon temeline dayanan bir yöntemdir. Teste tabi olacak bakteri agar yüzeyine yayılır ve agarın ortasından bir yarık oluşturulur. Yarığın içi test edilecek bakterinin üretildiği sıvı bakteri süspansiyonundan yaklaşık 10^9 - 10^{10} olacak miktarda yerleştirilir. Antibiyotik diskleri ile yarık arasında 30 mm kadar mesafe ile dizilir. Sefotaksim, aztreonam, seftriakson, seftazidim diskleri ile yapılabilir. Yarığın bulunduğu aralıkta, inhibisyon zonunda değişiklik veya küçülme testin sonucunu pozitif şeklinde yorumlandırır. Çok hassas, fakat yorucu ve teknik açıdan daha zor bir testtir (Gülay, 2004).

c. Otomatize Sistemler

GSBL tanısında otomatize sistemler de kullanılabilir. Otomatize sistemler, hasta sonuçlarını daha kısa sürede vererek, hastaya uygun antibiyotiğin daha kısa sürede başlanmasını sağlayarak, hastanın hastanede kalış süresini azaltır. Bunun yanı sıra laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası standardizasyonu sağlar. Tür düzeyinde yüksek oranda doğru identifikasyon yapar. Sonuçlar tekrarlanabilir. İç ve dış kalite kontrolü uygulanabilir. CLSI’nın önerdiği antibiyotikleri kademeli olarak raporlar. Doğru antibiyotik kullanımını sağlayacak şekilde, antibiyotik duyarlılıklarının raporlanmasında, düzenleme yapılabilmesine olanak sağlar. Hızlı ve etkin raporlama sağlar. Otomatize sistemlerin en önemli dezavantajı geleneksel yöntemlere göre, daha pahalı olmasıdır. Ayrıca üretici firmalar tüm sarf malzemelerinin, kendi ürünlerinden kullanılmasını istemekte, aksi takdirde verilerin kalitesinden sorumluluk kabul etmemektedir. Genellikle sistemi üreten firmaların belirlediği antibiyotiklere karşı paneller hazırlanmakta, bunlar dışında çalışılacak antibiyotikler için, el ile çalışılmak zorunda kalınmaktadır. Teknik iş

gücünü azaltmasına rağmen kesinlikle kalifiye teknik iş gücünün istihdamını gerekli kılmaktadır. Bu sistemlerde zor üreyen, anaerop ve bazı non-fermentatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları yapılamamaktadır. Bu nedenle laboratuvarlarda otomatize cihazların yanı sıra, geleneksel metodlar da bulundurulmalıdır. Cihazlar MIK saptanmasında sınırlı sayıda dilüsyon kullanır ve daha düşük ya da yüksek değerler, yarı kantitatif sonuç olarak verilir. Kısa inkübasyonlu otomatize sistemlerde yalancı duyarlı veya yalancı dirençli sonuçlar alınabilir. Bu kısa süre, tüm bakteri direnç mekanizmalarının (örn: indüklenebilir beta-laktamaz) açığa çıkmasına yetmeyerek saptanmamasına neden olabilir. Bütün sistemlerde, cihaza koymadan önce birçok işlem yapılması gerekir (bakterinin üretilip saflaştırılması, inokulum standardizasyonu gibi). Bu yüzden otomasyon, inokulum yoğunluğunun el ile hazırlanmasından sonra başlar ve inokulum yetersizliği, cihazın performansına etki eden önemli bir parametredir (İşler, 2008).

Otomatize sıvı bazlı antimikrobiyal duyarlılık testlerinden ülkemizde kullanılanları Vitek 1, Vitek 2, Microscan, Becton Dickinson Phoenix sistemleridir (İşler, 2008). Vitek 2 ve Phoenix GSBL saptama sistemi Amerika'da hem GSBL doğrulama testi hem de son zamanların uzman sistemleridir. Kıyaslandığında enzim karakterleri kullanılarak Vitek 2 GSBL doğrulama testinin % 98.1 hassas ve % 99.7 spesifik olduğunu göstermiştir. Vitek 2 sisteminin yalancı pozitif GSBL testlerine neden olan beta laktamazlardan SHV-1 veya K1'in fazla üretimi tanımlamada Phoenix'ten daha iyi olduğu belirlenmiştir. Genel olarak Vitek 2 sistemi kullanıcılar için daha fazla yorumlamalara, daha fazla seçeneğe sahip olduğundan daha fazla testin tekrarlanmasında önerilmektedir (Thomson ve ark, 2007). Wiegand ve arkadaşlarının manuel saptama prosedürleri ile yarı otomatize mikrobiyolojik sistemler kullanılarak *Enterobacteriaceae*'larda GSBL saptanmasına yönelik yaptıkları çalışmada Phoenix sisteminin %99, Vitek 2 sisteminin %86 duyarlı, Vitek 2 %78, Phoenix ise %52 spesifikite göstermiştir (Wiegand ve ark, 2007).

d. Polimeraz Zincir Reakyonu ve Moleküler Yöntemler

GSBL varlığının ortaya konmasında uygulanan moleküler yöntemler; DNA problemleri, PZR, PZR restriksiyon fragment length polimorfizm analizi, oligotiplendirme, ligase chain reaction, nükleotid analizi ve PZR-single strand conformation polymorphism analizleridir. DNA problemleri gen ailesi için özgüldür fakat genişlemiş spektrumlu olan ve olmayanı ayırtedemez, oldukça zahmetlidir. PZR uygulaması da geniş spektrumlu olan ve

olmayanı ayırtedemez ama basittir. Oligotiplendirme özgül TEM türlerini belirlemekte başarılıdır. Spesifik bir restriksiyon enzimi ile oluşturulabilen fragment dizilerindeki varyasyonlara RFLP denir. PZR-RFLP basit bir uygulamadır, nükleotidlerdeki özgül değişiklikleri belirleyebilir. PZR-SSCP, özel elektroforez şartları gerektirir ve farklı SHV türevlerinin ayırt etme özelliği vardır. LCR'de farklı SHV türlerinin saptayabilir fakat birçok oligonükleotid primerin kullanımına ihtiyaç duyar. Nükleotid dizi analizi yöntemi ise daha zahmetlidir ancak altın standart olarak kabul edilir (Bradford, 2001).

2.9. GSBL Sentezleyen Bakterilerin Klinikte Neden Olduğu Sorunlar

2.9.1. Direnç

GSBL enzimi sentezleyen bakterilerin klinikte yol açtığı problemlerin başında bu enzimleri sentezleyen bakterilerin sebep olduğu direnç sorunudur. Gram negatif bakterinin bu enzimlerden birini sentezlediği ortaya konmuşsa, bütün geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama karşı dirençli kabul edilmelidir. Bunun yanında bu enzimleri kodlayan plazmidler yine birçok betalaktam dışı antibiyotiğe karşı da genetik materyal barındırmaktadırlar. Buna bağlı olarak GSBL taşıyan bakterilerde başta aminoglikozitler olmak üzere kinolon, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazol direnci de aynı zamanda görülebilmektedir (Akova, 2004).

2.9.2. Hastaların Kolonizasyonu

Yatan hastalardan izole edilen ve GSBL sentezleyen bakterilerle kolonizasyon ihtimalini artıran birçok risk faktörü sayılabilir. Bu risk faktörleri: luzümsüz ve gereğinden uzun antibiyoterapi, yoğun bakımda yatış süresinin uzaması, bakımevi-huzurevi gibi yerlerde yaşama, aynı zamanda kronik, ciddi ve ağır hastalıkların olması, hastanede geniş spektrumlu sefalosporinlerin kullanımının sık ve fazla miktarda olması, doku bütünlüğünü bozan girişimler, acil abdominal cerrahi vs. sıralanabilir (Akova, 2004).

2.9.3. Laboratuvarda GSBL Saptanmasında Zorluklar

GSBL enzimi üreten bir bakteri, sentezlediği enzimin değişik sefalosporinlere tutumunun farklı olması ve inokulum etkisi gibi sebeplerle 3. kuşak sefalosporinlere hassas olarak görünebilir. İnokulum etkisi, eğer GSBL üreten bakteri sayısı yüksekse, direnç düzeylerinin de buna paralel olarak yükseldiğini anlatan bir tanımlamadır. Tavsiye edilen inokulum seviyelerinde (5×10^5 bakteri/ml), MİK değerleri daha aşağıda iken inokulum, bir enfeksiyon alanında olduğu üzere 10^7 'ye yükseltildiğinde MİK değerleri 100 ila 500 kat oranında artmaktadır. Bu yüzden de in vitro test sonuçları hassas gözükse de GSBL üreten bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlarda genişlemiş spektrumlu beta-laktam kullanımının sakınılmasının daha doğru olduğunu göstermektedir (Gülay ve Taşkiran, 2001). Şayet bu bakteri herhangi bir ÜSE dışında bir hastalığa sebep olmuşsa 3. kuşak sefalosporin uygulaması başarılı olamayacaktır (Akova, 2004). Sefotaksim ya da seftriaksonu kullanıldığı merkezde 3. kuşak sefalosporin gibi bir antibiyotik tercih etmesi GSBL varlığının teşhisini iyice zorlaştıracaktır (Akova, 2004).

2.10. Enfeksiyon Tedavisi

Sefamisin türevlerinden sefoksitin, diğer sefalosporinlere oranla GSBL enzimlerince inaktive edimeye direnç gösterirler. Bu sebeple GSBL üreten bakterilerin etken olduğu ciddi enfeksiyonların antibiyoterapisinde sefoksitin tercih edilmez. Buna sebep olarak *K. pneumoniae*'nin tedavi esnasında porin kaybına bağlı direnç oluşturmaları ya da bir takım enterik Gram negatiflerin GSBL sentezine ek olarak sefamisin türevlerini de hidrolize etme kabiliyeti taşıyan kromozomal beta-laktamazları da sentezlemeleridir (Akova, 2004). Dördüncü kuşak sefalosporinden sefepim, SHV kökenli GSBL'lere karşı dirençli olmasıyla dikkat çeker. Fakat sefepim de beta-laktamaz üretiminin artışı sonucu inokulum etkisiyle inaktive edilmektedir. Ayrıca yoğun sefepim kullanımı sonucu GSBL sentezleyen bakterilerin salgına yol açabileceği de gösterilmiştir. Sonuç olarak sefepimin GSBL üreten bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlarda ilk seçenek olarak tercih edilmemesi gerektiği ortaya çıkmaktadır. Şayet kullanılması gerekiyorsa da yüksek dozlarda ve etkin kombine antibiyotik seçenekleriyle (kinolon ya da aminoglikozidler) birarada verilmesi tavsiye edilmektedir (Paterson, 2000). Birçok klinik çalışmada GSBL üreten

mikroorganizmaların yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlerinden olumlu sonuç alındığı gösterilmiştir (Akova, 2004). Fakat bazı bakteriler çok sayıda betalaktamazı aynı anda sentezleyerek ya da fazla miktarlarda aynı beta-laktamazı üreterek beta-laktamaz inhibitörlerine karşı da direnç göstermesine yol açabilir (Akhan ve ark, 2001). İnhibitör dirençli beta-laktamaz diğer inhibitörlerin aksine tazobaktama karşı duyarlıdır. İlk zamanlarda beta-laktam olmayan antibiyotiklerin GSBL sentezleyen bakteri enfeksiyonlarında kullanılması başarılı bir uygulama gibi başlanmışsa da zamanla bu bakterilerin sıkça çoklu direnç geliştirmeleri nedeniyle yararlılığı uzun sürmemiştir. Bu yüzden kinolon türevleriyle aminoglikozidler gibi non-betalaktam içeren antibiyotikler GSBL sentezleyen bakteri enfeksiyonlarında öncelikli olarak tercih edilmezler (Bradford, 2001).

Son zamanlarda GSBL üreten Gram negatif bakteri enfeksiyonlarına karşı yaygın olarak uygulamada tercih gören antibiyotiklerin ilk sırasında karbapenem türevleri bulunmaktadır (Bradford, 2001). Karbapenem türevleri plazmid aracılığıyla sentezlenen GSBL veya GSBL dışı enzimlerin yanı sıra, kromozomlar aracılığıyla sentezlenen beta-laktamazlara karşı da etkindir. Karbapenemlerin bu durumlarda etkili olduğunu gösteren birçok klinik çalışma yapılmıştır. Bunun yanında karbapenemlerin yaygın kullanımı durumunda birtakım sıkıntılara yol açabildiğide dikkate alınmalıdır. Örnek olarak; metallokarbapenamaz sentezleyen bakterilerin oluşumu (*Stenotrophomonas maltophilia* gibi), kromozom aracılığıyla sentezlenen serin proteazların artmaya başlaması, *K. pneumoniae*'de porin mutasyonu ile ortaya çıkan karbapenem direnci sayılabilir (Bradford, 2001).

Üriner sistem enfeksiyonları hastane ve polikliniklerde en sık tanı konulan hastalıklardan birisidir. ÜSE çok farklı şekillerde karşımıza çıkabilmekle birlikte, asemptomatik bakteriüriden sepsisle giden piyelonefrite kadar değişebilen tablo gösterebilmektedir. Özellikle ÜSE'lerinde antibiyotiklerin yaygın ve kontrolsüz kullanılması, antibiyotik tüketiminin artmasına neden olmuş bu da başta direnç problemleri olmak üzere pek çok sorunu beraberinde getirmiştir. Bilindiği gibi en önemli antibiyotik direnç oluşum mekanizmalarından birisi, bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üretiminin olmasıdır. GSBL üreten mikroorganizmalar, kullanılan beta-laktam grubu antibiyotiklere direnç kazanmış ve bu direnç sorunu giderek önemli bir hal almıştır. Bu direnç özelliği dirençli suşlarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde sorunlara sebep olmaktadır. Bu sorunun çözümlenebilmesi için yeni antibiyotik arayışlarına girilmesi zorunlu hale gelmiştir (Ruhi ve ark, 2010).

Beta-laktam antibiyotiklere karşı bakteri direncinin en çok karşısına nedenlerinden birisi beta-laktamazlardır. Beta-laktamaz üretiminden sorumlu genler çok farklı yerlerde örneğin; kromozomlar, transpozonlar ve plazmidlerde bulunabilir, bununla birlikte özellikle plazmidlerde yerleşik genetik bilgi en önemli sorunu oluşturmaktadır. Plazmidlerle dirençli genlerinin konjugasyonla ortamda bulunan diğer mikroorganizmalara arasında kolayca aktarılmalari, bu bakterilerde bulunan direnç genlerinin birçok farklı türe hızla aktarılabilceğı anlamına gelmektedir ki bu durumda beta-laktamazlara bağıli direnç patojen suşlar arasında kolaylıkla yayılabilmektedir (Medeiros, 1997).

Bununla birlikte, bu sorunun ne kadar önemli olabileceğı ancak ne yazık ki son 15-20 yıl içerisinde anlaşılmıştır. Bugün tanımlanan beta-laktamazların toplam sayısı, son yirmi yılda bilinen sayının yaklaşık 3,5-4 katına ulaşmıştır. Son 20-30 yılda ne yazık ki pek çok yeni beta-laktamaz ortaya çıkmıştır. Gram negatif basillerin seftazidim ve seftriakson gibi sıklıkla kullanılan 3. kuşak sefalosporinlere direncin artması, beta-laktamaz direncinin nasıl hızlı oluştuğunu ve nasıl kolaylıkla yayılabildiğı konusunda oldukça iyi bir örnek olarak gösterilmektedir. Bu antibiyotikler, yaklaşık olarak 1980'lerin başlarında kullanılmaya başlanmış olsa da, 1982'de ilk geniş spektrumlu beta-laktamaz tanımlanmıştır (Sanders ve Sanders 1992). Bundan sonra, GSBL'lerin görülme sıklığı ne yazık ki hızla artmıştır. Bu direncin yayılmasıyla etkin bir şekilde savaşmak için, daha çok ve daha iyi bilgilere ihtiyaç bulunmaktadır.

Genişlemiş spektrumlu beta laktaz üreten mikroorganizmalar tüm dünyada hızla yayıldığı için antibiyotik tedavilerinin planlanmasında etkenin gerçekten bu enzimi üretip üretmediğinin doğru olarak tespit edilmesi gereklidir. Bir bakterinin genişlemiş spektrumlu beta laktaz üretip üretmediğinin belirlenebilmesi için pek çok test geliştirilmekle birlikte; bunlardan en çok kullanılanlarından bir tanesi doğrulama testi olarak da kullanım alanına sahip olan çift disk sinerji testidir. Bunun dışında bakterinin fenotipik olarak genişlemiş spektrumlu beta laktaz üreticisi olup olmadığının belirlenebilmesinde E-test ve üç boyutlu test gibi değişik yöntemlerde kullanılmaktadır. Yine aynı amaç için genotipik olarak moleküler tanı yöntemleri de kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, moleküler yöntemler daha pahalı olmaları, deneyimli personel gerektirmeleri gibi sebepler ile GSBL alt tiplerinin tam olarak ayrılabilmesini sağlayabilmekle birlikte çoğunlukla araştırma amaçlı kullanılmaktadır (Akçam ve ark, 2004).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. İzolasyon Örnekleri

Çalışmada yaklaşık olarak bir yıllık süre boyunca Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına, idrar yolu enfeksiyonu şüphesiyle getirilmiş olan 264 hastanın idrar örneği materyal olarak kullanıldı. Fenotipik olarak *E. coli* olarak identifiye edilen izolatalar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji AD Moleküler Teşhis Laboratuvarı'na getirildi. İzolatların saflık ve canlılıkları kontrolleri EMB agarda yapıldıktan sonra, kullanılıncaya kadar %20 gliserinli BHIB'da -20°C' de saklandı. Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2014-413 protokol numarası ile 17.10.2014 tarihinde izin alınarak gerçekleştirildi.

3.1.2. Besiyerleri

Toplanan örneklerin izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla Blood Agar (Merck 1.10886), MacConkey Agar (Merck 1.05465), Eozine-Metilen Blue Agar (Merck 1.01347), biyokimyasal testlerin yapılmasında Triple-Sugar-Iron Agar (Merck VM858915-212), Metil Red-Voges Proskauer Medium (Merck 1.05712), Simmons Citrate Agar (Merck 1.02501) Nutrient Broth (NB) (Oxoid CM 0067), antibiyogram yapılmasında Mueller-Hinton Agar (Merck 1.05437), izolatların saklanması için %20 gliserinli (Merck 4094) Brain Heart Infusion Broth (Oxoid-CM1135) kullanıldı.

3.1.2.1. Kanlı Agar

Blood agar..... 40 gr

Besiyeri 40 gr tartıldı üzerine 1 lt saf su eklendi, mikrodalga fırında agar eritildi. pH= 7.2±0.2 ayarlanıp; otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Sonrasında 45-

50°C'ye kadar soğutulup %5-7 oranında steril insan kanı ilave edildi, petrilere döküldü (Bilgehan, 2000).

3.1.2.2. MacConkey Agar

MacConkey Agar50 gr

Besiyeri 50 gr tartıldı üzerine 1 lt saf su eklendi, mikrodalga fırında agar eriyene kadar tutuldu, pH= 7.2±0.2 ayarlandı. Otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi Otoklav sonrasında 45-50°C'a soğutulup petrilere döküldü (Temiz, 2000).

3.1.2.3. Eosin Methylene Blue Agar

EMB Agar.....36 g

Besiyerinden 36 gr tartıldı üzerine 1 lt saf su eklendi, mikrodalga fırında agar eriyene kadar tutuldu, pH= 7.2±0.2 ayarlandı. Otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi Otoklav sonrasında 45-50°C'a soğutulup petrilere döküldü (Temiz, 2000). Sterilizasyon sırasında ısı etkisiyle metilen mavisi indirgendiğinden metilen mavisinin okside olup kendi mavi-mor renge dönmesi için besi yeri çalkalandı.

3.1.2.4. Triple Sugar Iron Agar

TSI Agar 52 g

Besiyeri 52 gr tartıldı üzerine 1 lt saf su eklendi, mikrodalga fırında agar eriyene kadar tutuldu, pH= 7.2±0.2 ayarlandı. 16x100mm’lik cam tüplere döküldükten sonra, otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi. 45°lik açı ile yatık pozisyonda besiyeri donuncaya kadar oda ısısında bekletildi (Bilgehan, 2000).

3.1.2.5. Metil Red-Voges Proskauer Medium

Pepton..... 7.0 g

D(+) Glucose.....	5.0 g
Phosphate buffer.....	17.0 g

Dehidre besiyeri, 17,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde eritilip, standart deney tüplerine 5'er mL olarak dağıtıldı. Otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi. Hazırlanmış besiyeri berrak, sarımsı- kahve renktedir ve 25° C'da pH'sı 6.9±0.2'dir.

3.1.2.6. Simmons Sitrat Besiyeri

Simmons Sitrat Besiyeri.....	22.3 g
------------------------------	--------

Besiyeri, 22.3 g/L olacak şekilde bir litre distile su içinde mikrodalga fırın kullanılarak tam olarak eritildi. Besiyeri henüz sıvı halde iken, standart 16x160 mm tüplere 7'şer mL olarak dağıtılıp, tüpler 121°C'da 15 dakika sterilize edilir. Otoklav çıkışında besiyeri henüz sıvı iken tüpler 1-1.5 cm yüksekliğinde bir çubuğa yatırılarak (tüpün dibinde 2-2.5 cm yüksekliğinde bir besiyeri kalınlığı olacak) besiyeri katılaştırıldı. Bu besiyeri berrak ve yeşil renkte olup, 25°C 'da pH'sı 6.6±0.2'dir (Engelkirk, 2008).

3.1.2.7. Mueller- Hinton Agar

Mueller Hinton Agar.....	38 g
--------------------------	------

Besiyeri 38 gr tartıldı üzerine 1 lt saf su eklendi, mikrodalga fırında agar eriyene kadar tutuldu, pH= 7.2±0.2 ayarlandı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi Otoklav sonrasında 45-50°C'a soğutulup petrilere döküldü (Temiz, 2000).

3.1.2.8. Brain Hearth Infusion Broth (%20 gliserinli)

BHIB.....	3.7 g
Gliserin.....	20 ml
Distile su.....	80 ml

Besiyeri 3.7 gr tartıldı üzerine 80 ml saf su ve 20 ml gliserin eklendi, mikrodalga fırında agar eriyene kadar tutuldu, pH= 7.2±0.2 ayarlandı, 500 µl miktarda ependorf tüplere dağıtıldı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi (Bilgehan, 2000).

3.1.2.9. Nutrient Broth

Nutrient Broth.....	8 g
Distile su.....	1000 ml

Besiyeri 8 gr tartıldı üzerine 1 lt saf su eklendi, mikrodalga fırında agar eriyene kadar tutuldu, pH= 7.2±0.2 ayarlandı. 16x100mm’lik cam tüplere döküldükten sonra, otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi (Bilgehan, 2000).

3.1.3. Ayıraçlar

3.1.3.1. Oksidaz

N, N, N', N' – tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride.....	1 g
Distile su.....	100 ml

Reaktif kağıt şeritlere emdirilmiş şekilde kullanıma hazır olarak temin edildi. Buzdolabında (2-8°C) saklandı (Engelkirk, 2008).

3.1.3.2. Kovaks

P-Dimethylaminobenzaldehyde	10 g
Isoamylalcohol	150 ml
HCl	50 ml

Kullanıma hazır olarak temin edilen ayıraç buzdolabında (2-8°C) saklandı (Engelkirk, 2008).

3.1.3.3. Metil Kırmızısı

Metil kırmızısı.....	0.05 g
%95’lik etil alkol	150 ml
Distile su.....	100 ml

Kullanıma hazır olarak temin edilen ayıraç buzdolabında (2-8°C) saklandı (Engelkirk, 2008).

3.1.3.4. Voges-Proskauer

a. Alfa naftol.....	5 g
%100'lük etil alkol.....	100 ml
b. Potasyum hidroksit.....	40 g
Distile su.....	100 ml

Kullanıma hazır olarak temin edilen ayıraç buzdolabında (2-8°C) saklandı (Engelkirk, 2008).

3.1.4. Boyalar

Gram boyama (Merck-111885) yapıldı.

3.1.5. Antibiyotik Diskleri

Çalışmada hepsi BD BBL USA marka amikasin (30 µg), amoksisilin-klavunik asit (20/10 µg), aztreonam (30 µg), sefazolin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), sefepim (30 µg), norfloksasin (10 µg), piperasilin-tazobaktam (100/10 µg), kolistin (10 µg), imipenem (10 µg), sefpodoksim (10 µg), sefuroksim (30 µg), sefotaksim (30 µg), ampisilin-sulbaktam (10/10 µg), nitrofurantoin (300 µg), trimetoprim sulfametaksazol (1.25/23.75 µg), fosfomisin (200 µg), sefaperazon sulbaktam (30 µg), gentamisin (10 µg), seftriakson (30 µg) antibiyotik diskleri kullanıldı. Diskler kullanılıncaya kadar buzdolabında -2/+8 °C de saklandı.

3.1.6. PZR’da Kullanılan Solusyonlar

3.1.6.1. TBE (Tris, Borik Asit, EDTA, pH:8.0) Buffer

10X TBE Stok Solusyonu

Tris Base.....	121.1 g
Borik Asit.....	61.83 g
EDTA.....	5.84 g

Distile su ile hacim 1000 ml’ye tamamlanarak 121°C’de 15 dk otoklav edilip, pH 8.0 ayarlanarak buzdolabında saklandı.

0,5X TBE Kullanma Solusyonu

10X TBE.....	50 ml
Distile su.....	950 ml

Karıştırılarak solusyon hazırlanmıştır. Hazırlanan bu solüsyondan hem agaroz hazırlamada hem de elektroforez tankı içerisinde kullanıldı.

3.1.6.2. Gel Loading Buffer (6X)

Bromfenol mavisi.....	25 mg
Sükroz.....	4 g
H ₂ O.....	10 ml

Karıştırılarak solüsyon hazırlandı.

3.1.7. Standart Suşlar

E. coli izolatlarının tür düzeyinde belirlenmesi için gerçekleştirilen PZR’da pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922, negatif kontrol olarak da *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşu kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testinde kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922’den yararlanıldı.

3.1.8. Primerler

Çalışmada *E. coli* izolatlarının genotipik olarak tür düzeyinde doğrulanmasında *usp* (üniversal stres protein geni); GSBL enzim dirençlilik genlerinin belirlenmesinde *SHV*, *CTX*, *TEM*, *OXA*; P fimbria genlerinin belirlenmesinde *papA* ve *papG* primerlerinden faydalanıldı. Çalışmada kullanılan primerler, sekansları, amplikon uzunlukları, hedef genleri ve kaynakları Tablo 4’de gösterimiştir.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan primerler

Primer	Primer Sekansları (5’-3’)	Amplikon Uzunluğu(bp)	Hedef Gen	Kaynak
<i>usp</i> -F <i>usp</i> -R	CCGATACGCTGCCAATCAG ACGCAGACCGTAGGCCAGAT	884	<i>usp</i>	(Chen ve Griffiths, 1998)
<i>SHV</i> -F <i>SHV</i> -R	CGCCTGTGTATTATCTCCCT CGAGTAGTCCACCAGATCCT	293	<i>blaSHV</i>	(Bali, 2007)
<i>CTX</i> -M-F <i>CTX</i> -M-R	CGCTGTTGTTAGGAAGTGTG GGCTGGGTGAAGTAAGTGAC	569	<i>blaCTX</i>	
<i>TEM</i> -F <i>TEM</i> -R	ATAAAATTCTTGAAGACGAAA GACAGTTACCAATGCTTAATCA	1080	<i>blaTEM</i>	(Weill ve ark, 2004)
<i>OXA</i> -F <i>OXA</i> -R	ACCAGATTCAACTTTCAA TCTTGGCTTTTATGCTTG	598	<i>blaOXA</i>	(Gallardo ve ark, 1999)
<i>papG</i> allel I-F <i>papG</i> allel I-R	TCGTGCTCAGGTCCGGAATTT TGGCATCCCCAACATTATCG	461	<i>papG</i> allel I	(Moreno ark, 2005)
<i>papG</i> allel II-F <i>papG</i> allel II-R	GGGATGAGCGGGCCTTTGAT CGGCGGCCCAAGTAACTCG	190	<i>papG</i> allel II	
<i>papG</i> allel III-F <i>papG</i> allel III-R	GGCCTGCAATGGATTTACCTGG CCACCAATTGACCATGCCAGAC	258	<i>papG</i> allel III	
<i>papG</i> allel II ve III-F <i>papG</i> allel II ve III-R	CTGTAATTACGGAAGTGATTTCTG ACTATCCGGCTCCGATAAACCAT	1070	<i>papG</i> allel II-III	(Toni ve ark, 2006)
<i>papA</i> -F <i>papA</i> -F	ATGGCAGTGGTGTCTTTTGGTG CGTCCCACCATACGTGCTCTTC	720	<i>papA</i>	

3.1.9. Kullanılan Cihazlar

PZR 96 örnek kuyucuklu Boeco (Almanya) marka kademeli termal döngüleme cihazında, elektroforez VWR marka, 64 kuyucuk kapasiteli elektroforez tankında, görüntüleme Vilber Lourmat (Infinity VX2, Almanya) marka görüntüleme cihazında gerçekleştirildi.

3.1.10. Agaroz Jel

Agaroz (Sigma)..... 1 ve 1.5 g

TBE (0.5X) 100 ml

Buffer, şişe içerisindeki agarozun üzerine ilave edilip, karıştırılmış ve mikrodalga fırında yaklaşık 3-5 dk kaynatılan karışım, 40-50°C'ye kadar soğutulmuştur. Karışım jel kalıbına dökülmüş ve içerisine taraklar yerleştirilerek soğumaya bırakılmıştır

3.1.11. Marker

Marker olarak 100 bp (Vivantis® ve Fermentas® marka) DNA Ladder kullanıldı.

3.1.12. Etidium Bromür

Elektroforez işleminden sonra görüntüleme için jelin boyanmasında Sigma marka %1'lik ethidium bromür 500 ml 0.5X TAE içerisine 100 µl miktarında eklenerek kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. *E. coli*'nin İzolasyonu

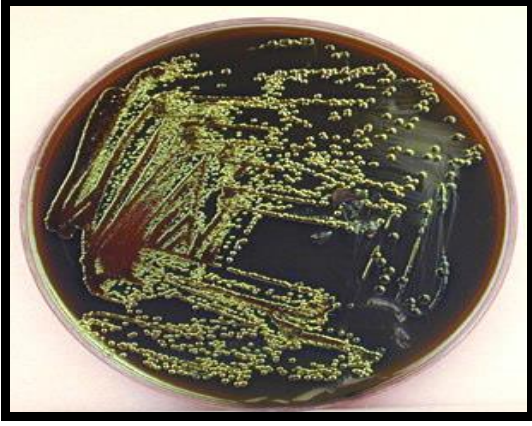
3.2.1.1. Örneklerin Alınması

İdrar kültürü için örnekler hastanede idrar yolu enfeksiyonu açısından incelenmek üzere alındı. Bunun için en az 10 gün antibiyotik tedavisi almamış hastaların sabah, bölgesel temizlik işlemi yaptırdıktan sonra, ilk idrarın ilk kısmı atıldıktan sonra gelen orta idrar, 20-30 ml steril kaba alınarak, en geç 30 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Laboratuvarda makroskopik, mikroskopik ve mikrobiyolojik incelemeleri yapıldı (Bilgehan, 2000).

3.2.1.2. *E. coli*'nin Fenotipik Tanımlanması

Getirilen örnekler makroskopik olarak incelendiğinde çoğunlukla bulanık veya kanlı nadiren duru görünümde oldukları tespit edildi. Mikroskopik incelemede orta idrar şeklinde alınmış idrar örneğinden 15 ml 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki süpernat döküldü, tüpün dip kısmında kalan çökeltiden temiz bir lamın üzerine bir damla damlatıldıktan sonra temiz bir lamelle kapatıldı. 40X büyütme ile lökosit ve bakteri yönünden incelendi. Mikrobiyolojik kültür için ise idrar iyice karıştırıldıktan sonra KA ve EMB agarlara 0.1 ml'lik kalibre edilmiş pipet ile ekildi ve steril cam bir bagetle plağa yayıldı. Etüve konulan plaklar $36\pm1^{\circ}\text{C}$ 24 saatlik bir inkübasyondan sonra koloni sayımları yapıldı. Her plakta sayılan koloni miktarı 10 ile çarpılarak mililitredeki koloni sayısı belirlendi. Elde edilen değerlere göre 10^5 koloniden yukarısı "üriner enfeksiyon" olarak kabul edildi (Bilgehan, 2000). KA'da küçük gri renkli, EMB agarda metalik yeşil refle veren (Resim 2) saf olarak üremiş kolonilerin identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testleri de beraberce yürütülerek 48 saat içinde sonuca gidildi.

Biyokimyasal testlerin yapılması için izolatlar saf üremiş kolonilerden NB'a, KA'a, MacConkey Agar ve TSIA'a pasajlandı. $36\pm1^{\circ}\text{C}$ 24 saat inkübe edildi. Gram boyama, oksidaz, indol, MR-VP, sitrat, TSIA'da üreme özellikleri incelendi.



Resim 2. *E. coli* izolatının EMB agardaki görünümü

3.2.1.2. 1. Oksidaz Testi

Gram negatif mikroorganizmaların oksidaz aktiviteleri, oksidaz diski ile ölçüldü. Şüpheli bakterinin 18–24 saatlik saf kültüründen öze ile alınan koloniler oksidaz diskine yayılarak sürüldü. 25–30 saniye içinde diskin pembe–mor bir renk “pozitif”, renk değişikliğinin olmaması “negatif” olarak değerlendirildi (Koneman ve ark, 1997).

3.2.1.2. 2. İndol Oluşumu

NB’da bir gecelik inkubasyon süresi sonunda besi yerinin üzerine 0.5 ml Kovacs ayırıcı ilave edildi. İndol pozitif suşlar besi yerinin üzerinde kırmızı negatif suşlar sarı bir halkanın teşekkülüne sebep oldu (Koneman ve ark, 1997).

3.2.1.2. 3. Metil Red–Voges Proskauer Testi

MR buyyona taze kültürden bir öze dolusu ekim yapıldı ve 37°C de 2–7 gün inkubasyona bırakıldı. Üretilen kültürden bir kısım alınarak üzerine 4–5 damla metil red solüsyonundan damlatıldı. Kırmızı renk oluşumu MR pozitif olarak değerlendirildi. Kültürün kalan kısmına 3 ml %5’lik alfanaftol solüsyonundan ilave edilerek karıştırıldı. Bunun üzerine %40’lık KOH çözeltisinden bir ml ilave edildi ve 2–5 dakika içerisinde pembe renk oluşumu VP pozitif olarak değerlendirildi (Bekar, 1997).

3.2.1.2. 4. Sitrat Testi

Bu besiyerindeki tek karbon kaynağı sitrattır. Buna bağlı olarak sitratın karbon kaynağı olarak kullanılması halinde besiyerinin pH'sı yükselir ve bu durum pH indikatörü aracılığı ile belirlenir. 37°C'da 48 saat süren inkübasyondan sonra besiyerinin orijinal rengi olan koyu mavi rengin korunmuş olması sitratın kullanılmadığını, besiyeri renginin yeşile dönüşmesi ise sitratın kullandığının göstergesidir (Bekar, 1997).

Gram boyama neticesinde Gram negatif çomak şekilli ve yapılan biyokimyasal testler sonucunda, oksidaz negatif, indol pozitif, MR pozitif, VP negatif, sitrat negatif olan, EMB agarda metalik yeşil refle veren, MacConkey Agar'da laktoz pozitif üreme gösteren, TSI agarda hareketli olan ve H₂S negatif reaksiyon veren koloniler fenotipik olarak *E. coli* kabul edildiler (Bilgehan, 2002).

Fenotipik yöntemle *E. coli* olarak idikasyonu yapılan izolatlar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji AD Moleküler Teşhis Laboratuvarı'nda EMB agarda saflık ve canlılıkları kontrolleri yapıldıktan sonra çalışmalarda kullanılmaya kadar %20 gliserinli BHIB'da -20°C' de saklandılar.

3.2.1.3. *E. coli*'nin Genotipik Tanımlanması

Moleküler çalışmalar için öncelikle bakterilerden aşağıda bildirildiği şekilde DNA ekstraksiyonları yapıldı.

3.2.1.3.1. DNA İzolasyonu

Öncelikle *E. coli* izolatlarından PZR'de kullanılmak üzere DNA ekstraksiyonu ticari bir genomik DNA ekstraksiyon kiti (Fermentas®) kullanılarak üretici firmanın önerdiği şekilde aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

*200 µl bakteri süspansiyonu 400 µl lizis solüsyonu ile karıştırıldı.

*65°C'de 5 dakika inkube edildi.

*600 µl kloroform ilave edilerek karıştırıldı ve 10.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.

*Santrifüjden sonra üst sıvı yeni bir tüpe aktarılarak 800 µl presipitasyon solüsyonu ilave edildi. Presipitasyon solüsyonu, 720 µl steril distile su ile 80 µl 10x konsantre solüsyonu ile karıştırılarak hazırlandı.

*10.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.

*Üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra, pelete 100 µl 1.2 M NaCl ilave edilerek vortekslendi.

*300 µl soğuk %96'lık etanol ilave edilerek 10 dakika -20°C'de DNA'nın presipitasyonu sağlandı. *10.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi.

*Üstteki etanol dökülerek pelet %70'lik soğuk etanol ile yıkandı.

*Pelet kurutulduktan sonra DNA 100 µl steril distile suda çözündürülerek iyice karıştırıldı. Her bir PZR reaksiyonu için 2 µl template DNA kullanıldı.

3.2.1.3.2. DNA'nın Elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi, 5µg/ml etidyum bromid'li %1 agaroz içeren mini jelde gerçekleştirildi. Jel hazırlanmasında ve elektroforezde 0.5X TBE tamponu kullanıldı 5µl DNA solüsyonu, 1 µl yükleme solüsyonu ile karıştırılarak 100 V'ta 35 dakika süreyle yürütüldü. Elektroforez sonucunda başlangıç noktasına yakın, yüksek molekül ağırlıklı tek bir bant gözlenmesi, izole edilen DNA'ların bütünlüğünün tam olduğunu gösterdi (Sambrook ve ark, 1989).

3.2.1.3.3. DNA'nın Saflık Kontrolü ve Miktar Tayinleri

İzolatlardan elde edilen genomik DNA'lar agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildikten sonra, saflık kontrolleri ve miktar tayinleri spektrofotometre ile yapıldı (Sambrook ve ark, 1989). Spektrofotometrede DNA'ların 260 nm ve 280 nm'deki absorpsanları hesaplandı (OD260 ve OD280) ve bu değerler arasındaki oran kullanılarak DNA'nın saflığı kontrol edildi. OD260/OD280 oranının 1.8-2.0 arasında olması DNA'nın saf olduğunu, bu aralıktan daha aşağıda olması RNA kontaminasyonu olduğunu ve bu

aralıktan daha yukarıda olması da protein kontaminasyonu olduğunu göstermektedir (Turner ve ark, 2004).

3.2.1.3.4. PZR

Tüm PZR'lar amplifikasyon, elektroforez ve görüntüleme olmak üzere üç aşamada gerçekleştirildi. Tüm PZR reaksiyonlarında master mikslar aşağıdaki gibi hazırlandı.

Master Mikslerin Hazırlanışı: Tüm PZR reaksiyonlarında bir örnek için PZR amplifikasyonu 25 µl toplam hacimde, son konsantrasyon Taq enzimi tampon çözeltisi 1X, magnesium klorür (MgCl₂) 2 mM, dNTP 0.2 mM, primer (her biri için) 0.4 pmol, Taq DNA polimerase 1.5 U olacak şekilde gerçekleştirildi. Kullanılan malzemeler ve volümleri Tablo 5'te belirtilmiştir.

Mastermikslar hazırlandıktan sonra 0.2 mL'lik tüpler, örnek adedi kadar numaralandırılıp, içlerine 25'er µl hazırlanan mastermiksten ilave edildi. Daha sonra, ekstraksiyonu yapılan DNA'dan 2'er µl alınıp, ilgili tüplerin içine eklendi ve ağızları sıkıca kapatıldı. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlandı.

Tablo 5. Mastermiksin hazırlanma oranları

Malzeme (Konsantrasyon)	İstenen Son Konsantrasyon	10 örnek (µl)
Buffer (10X)	1 X	30
MgCl ₂ (25 mM)	2 mM	24
dNTP (10 mM)	0.2 mM	6
Primer-F (100 pmol)	0.4 pmol	1.2
Primer-R (100 pmol)	0.4 pmol	1.2
Taq Polimeraz (5 U)	0.3 µl/ 50 µl	1.8
dH ₂ O	Son miktara tamamlanır	235.8
TOPLAM		300

3.2.1.3.4. 1. Usp PZR

E. coli izolatlarının tür düzeyinde identifikasyonun doğrulanabilmesi için tüm *E. coli* suşlarında en çok bulunan universal stres protein geni olan “*uspA*” varlığı, tüm izolatlarda PZR ile incelendi. Universal stres proteini olan Usp 13.5 kDa ağırlığında sitoplazmik bir proteindir. Isı şoku, ozmotik basıncın artması, ortamda bulunan besinin azalması, toksik etkenler bu proteinin sentezini artırır. *E. coli* universal stres proteinini kodlayan *uspA* geni *E. coli* kromozomunda lokalize olmuştur (Chen ve Griffiths, 1998).

uspA primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR sonrasında moleküler olarak *E. coli* oldukları doğrulanan izolatlar, çalışma materyali olarak ayrıldı. Tablo 6’da *usp* PZR’da kullanılan reaksiyon koşulları verilmiştir.

Tablo 6. *Usp* PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık (°C)	Süresi
Başlangıç Denatürasyon	1	95°C	5 dk
Denatürasyon	35	95°C	30 sn
Bağlanma		58°C	30 sn
Uzama		72°C	1 dk
Son Uzama	1	72°C	15 dk

3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testinin Yapılışı ve Değerlendirilmesi

İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında Kirby Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanıldı (Bauer ve ark, 1966). Bunun için izolatlar TSB’da 37°C’de bir gece inkübe edildikten sonra, bulanıklıkları fizyolojik tuzlu su kullanılarak Mac Farland no: 0.5 standart tüpü bulanıklığına ayarlandı. Bu kültüründen 0.1 ml miktarında MHA’a ekildi, baget ile kültür yayıldıktan sonra 3–5 dakika bekletildi, sonra seçilen antibiyotik diskleri agar yüzeyine yerleştirilerek, petriler 35±2°C’de 18±2saat inkubasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası disk etrafında üremenin tümüyle inhibe olduğu zonun çapı, disk çapını da içine alacak şekilde çıplak gözle ölçüldü. Okuma, petri siyah bir zemin üzerinde tutularak ve yansıyan ışıktaki yapıldı. Sonuçlar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI, 2012) geliştirdiği yorum kriterlerine dayanılarak duyarlı (S) orta derecede duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak yorumlandı.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde kalite kontrol suşu olarak da *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testlerinde yörede üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde en çok kullanılan 7 antimikrobial aileye ait 20 antibiyotik kullanıldı. Kullanılan antibiyotiklerin adı, disk içerikleri ve değerlendirme kriterleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Kullanılan antibiyotiklerin adı, disk içerikleri ve değerlendirme kriterleri

Antimikrobiyaller	Etki Mekanizması	Disk içeriği (µg)	Zon Çapı (mm)		
			≤ Dirençli	I Orta Duyarlı	≥ Duyarlı
Amikasin	Aminoglikozid	30	14	15-16	17
Gentamisin	Aminoglikozid	10	12	13-14	15
Amoksisilin/klavulanik asit	β laktam/β laktamaz inhibitörü	20/10	13	14-17	18
Piperasilin/tazobaktam	β laktam/β laktamaz inhibitörü	100/10	17	18-20	21
Ampisilin/sulbaktam	β laktam/β laktamaz inhibitörü	10/10	11	12-14	15
Sefazolin	β laktam/Sefalosporin	30	14	15-17	18
Sefepim	β laktam/Sefalosporin	30	14	15-17	18
Sefpodoksim	β laktam/Sefalosporin	10	17	18-20	21
Sefuroksim	β laktam/Sefalosporin	30	14	15-17	18
Sefotaksim	β laktam/Sefalosporin	30	14	15-22	23
Sefaperazon sulbaktam	β laktam/Sefalosporin	30	15	16-20	21
Seftriakson	β laktam/Sefalosporin	30	13	14-20	21
Aztreonam	β laktam/Monobaktam	30	15	16-21	22
İmipenem	β laktam/Karbapenem	10	13	14-15	16
Siprofloksasin	Florokinolon	5	15	16-20	21
Norfloksasin	Florokinolon	10	12	13-16	17
Kolistin	Polimiksin	10	10	-	11
Nitrofurantoin	Nitrofuran	300	14	15-16	17
Trimetoprim-sulfametaksazol	Sülfanomid	1.25/23.75	10	11-15	16
Fosfomisin	Fosfomisin	200	12	13-15	16

3.2.3. GSBL'nin Fenotipik Araştırılması

3.2.3.1. Disk Difüzyon Testi ile Tarama

İzolatlarda GSBL enzim varlığını araştırmak için öncelikle disk difüzyon yöntemi ile sefotaksim, seftriakson, sefpodoksim ve aztreonam antibiyotik diskleri kullanılarak tarama yapıldı. Bu antibiyotiklerden en az bir tanesine karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde (antimikrobiyal inhibisyon zonu sefotaksim ≤ 27 mm, seftriakson ≤ 25 mm, sefpodoksim ≤ 17 mm, aztreonam ≤ 27 mm) GSBL enzim varlığından şüphelenildi sonrasında doğrulama testi olarak çift disk sinerji testi yapıldı (CLSI, 2012).

3.2.3.2. Çift Disk Sinerji Testi ile Doğrulama

İzolatlarda GSBL enzim varlığını doğrulamak için disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Bunun için McFarland 0.5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonunun yayıldığı Mueller Hinton agar plağının ortasına

amoksisilin/klavulanik asit diski ve etrafında disk merkezinden disk merkezine uzaklığı 20-30 mm olacak şekilde sefotaksim, seftriakson, sefpodoksim, aztreonam diskleri yerleştirildi. Daha sonra antibiyogram plakları 35°C±2°C 16-18 saat aerobik koşullarda inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda amoksisilin/klavulanik asit ile etrafındaki antimikrobiyallerin inhibisyon zonlarının kesiştiği bölgede bir inhibisyon alanının gözlenmesi ile GSBL enzim varlığı saptanmış oldu (Liwermore ve Brown, 2001).

3.2.4. GSBL Enzim Tiplerinin PZR İle İncelenmesi

E. coli izolatlarının GSBL enzim tiplerinin belirlenmesinde PZR kullanıldı. GSBL enzimlerinin tiplendirilmesi için dört gen (*bla*CTX, *bla*SHV, *bla*OXA, *bla*TEM) incelendi. İlgili PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramının Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. GSBL direnç genlerinin PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Süre	Sıcaklık (°C)			
			<i>bla</i> CTX	<i>bla</i> SHV	<i>bla</i> OXA	<i>bla</i> TEM
Başlangıç Denatürasyon	1	5 dk	95	95	95	95
Denatürasyon	35	30 sn	95	95	95	95
Bağlanma		30 sn	55	57	44	48
Uzama		30 sn	72	72	72	72
Son Uzama	1	15 dk	72	72	72	72

3.2.5. P Fimbria Varlığının PZR İle İncelenmesi

E. coli izolatlarının P fimbria (*papA*, *papG*) taşıyıp taşımadıkları PZR ile araştırıldı. *papA*, *papG* allel I, *papG* allel II, *papG* allel III fimbria tiplendirilmesinde kullanılan PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramının Tablo 9’de gösterilmiştir.

Tablo 9. P fimbria genlerinin PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Süre	Sıcaklık (°C)				
			<i>papA</i>	<i>papG</i> allel I	<i>papG</i> allel II	<i>papG</i> allel III	<i>papG</i> allel II ve III
Başlangıç Denatürasyon	1	5 dk	95	95	95	95	95
Denatürasyon	35	30 sn	95	95	95	95	95
Bağlanma		30 sn	62	59	60	62	63
Uzama		30 sn	72	72	72	72	72
Son Uzama	1	15 dk	72	72	72	72	72

3.2.6. Amplikonların Elektroforez Tankına Yüklmesi

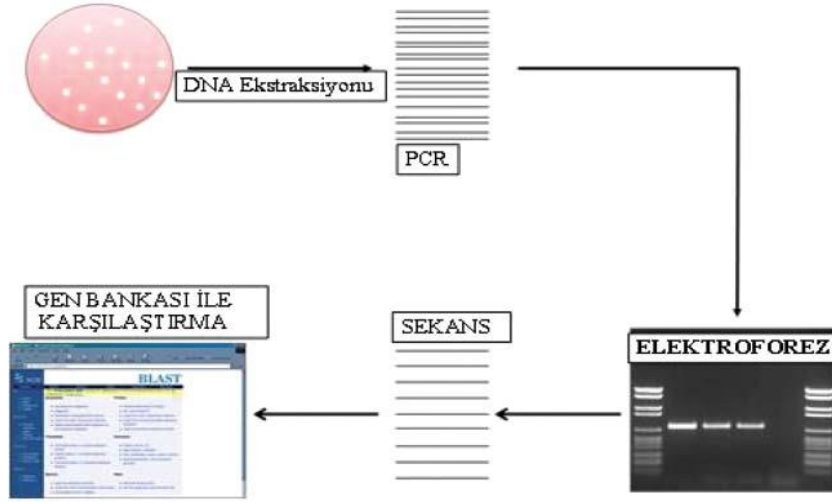
6x elektroforez boyasından 1 µl alınıp, elde edilen 5 µl PZR ürünleriyle karıştırıldı. Bu karışımdan 6 µl alınarak, jeldeki uygun pozisyonadaki kuyucuğa yüklendi. Hazırlanan jelle, istenilen örnekler ve markerların yüklemesi yapıldıktan sonra, elektroforez tankının kapağı kapatılıp, elektrotlar uygun pozisyonda bağlandıktan sonra 100V, 400A akımda 45 dakika yürütüldü.

3.2.7. Görüntüleme ve Değerlendirme

Yüz voltda 45 dakikalık elektroforez süresinin ardından elde edilen jel, dikkatli bir şekilde içerisinde etidyum bromür olan tanka konuldu. Burada 15 dakika boyanmaya bırakıldı. Süre sonunda boyanan jel, bilgisayara bağlı durumdaki transilluminatör cihazındaki odacığa yerleştirildi. Değerlendirme, jel UV ışığı altında fotoğraflandıktan sonra, bant uzunlukları her PZR için ayrı ayrı olacak şekilde, daha önce Tablo 4’de bildirilen ürün uzunlukları dikkate alınarak yapıldı.

3.2.8. Sekans Analizi

Saha izolatlarında GSBL genleri ve P fimbria tiplerinin varlığını belirlemek için gerçekleştirilen PZR işlemi sonrasında elde edilen amplikonlardan bir tanesi sekans analizlerinin gerçekleştirilmesi için özel bir firmaya (MacroGen, Korea) gönderildiler. Firmada saflaştırmayı takiben ABI Primse cihazı ile sekans analizi gerçekleştirildi. Elde edilen bu sekansları pozitif kontrol olarak kullanmak için gen bankası ile karşılaştırıldı. Bu amaçla National Center of Biotechnology Information’ın web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) Nucleotide-Nucleotide BLAST programı kullanıldı (Şekil 3).



Şekil 3. Sekans analizinin yapısı

3.2.10. İstatistiksel Analiz

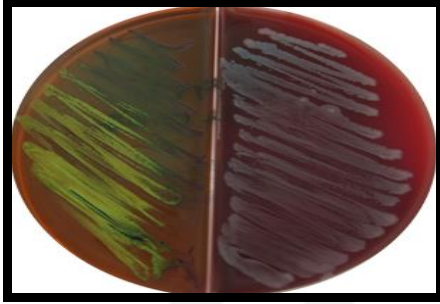
Verilerin analizlerinde betimsel istatistiklerden frekans, yüzde ve ki-kare testlerinden yararlanıldı (Büyüköztürk, 2014). Veriler SPSS paket programı aracılığıyla analiz edildi. Ki Kare testi; i. GSBL üreten ve üretmeyen, ii. *papA* ve *papG* taşıyan ve taşımayan izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik durumları arasındaki ilişkiyi karşılaştırmak için kullanıldı. Sonuçlar %95’lik güven aralığında, anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

4.1.1. Fenotipik

Bu çalışmada, bir yıllık süre boyunca 264 idrar örneğinin fenotipik olarak incelenmesi sonucunda, EMB ve kanlı agarlarda referans suşla (*E. coli* ATCC 25922) benzer görünümdeki bakteri kolonileri seçilerek, örneklerin %49.6'sından (133 izolat) *E. coli* şüpheli izolat elde edildi.

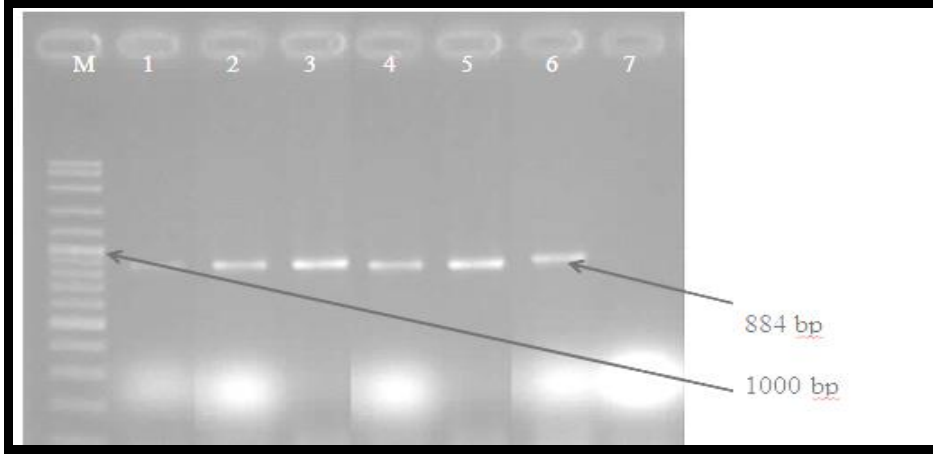


Resim 3. *E. coli* ATCC 25922 suşunun EMB ve kanlı agardaki görünümü

EMB agarda metalik yeşil refle veren, kanlı agarda küçük gri renkli hemolizsiz koloniler oluşturan, Gram negatif çomak şeklinde, oksidaz negatif, indol pozitif, MR pozitif, VP negatif, sitrat negatif, hareketli, H₂S negatif izolatlar *E. coli* şüpheli olarak değerlendirildi.

4.1.2. Genotipik

E. coli izolatlarının tür düzeyinde identifikasyonun doğrulanabilmesi için, *E. coli* suşlarında bulunan universal stres protein geni olan “*uspA*” geni varlığı, tüm izolatlarda PZR ile incelendi. İzolatların DNA'sı kullanılarak *uspA* spesifik primerlerle gerçekleştirilen PZR sonrasında 884 bp uzunluğunda ürün elde edildi (Resim 4). Moleküler olarak *E. coli* oldukları doğrulanan 133 izolat çalışma materyali olarak kullanıldı.



Resim 4. *E. coli* izolatlarının jel elektroforez görüntüleri. **1-5:** *E. coli* izolatları **6.** Pozitif Kontrol (*E. coli* ATCC 25922) **7.** Negatif Kontrol (*E. faecalis* ATCC 29212)

4.2. Demografik Bulgular

Enfeksiyon etkeni olarak *E. coli* izole edilen hastaların cinsiyetlerine göre dağılımına bakıldığında hastaların %57.2'sinin kadın, %43.8'inin erkek olduğu belirlendi (Tablo 10).

Tablo 10. Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı

Cinsiyet	N (%)
Erkek	57 (43.8)
Kadın	76 (57.2)

*Toplam izolat sayısı: n=133

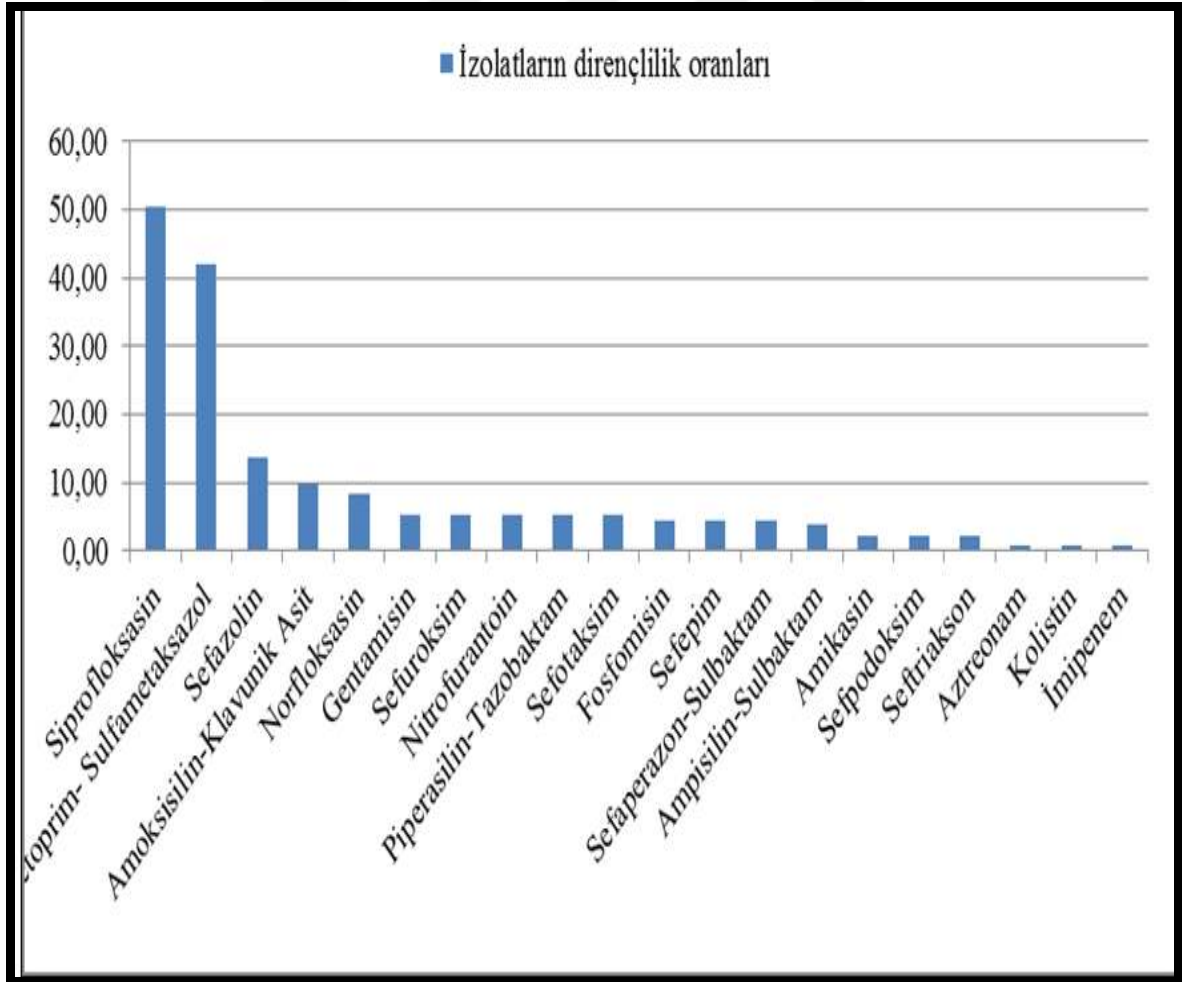
4.3. Antibiyotik Dirençlilik Bulguları

Yüz otuz üç *E. coli* izolatının %50.30'ünün siprofloksasine, %42.10'unun trimetoprim sulfametaksazole, %13.55'inin sefazoline, %9.80'inin amoksisilin-klavunik asite, %8.30'unun norfloksasine dirençli oldukları belirlenirken; kullanılan diğer 15 antibiyotiğe karşı direnç oranlarının %5.30 ile %0.75 arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 11, Şekil 4) .

Tablo 11. İzolatların antibiyotik duyarlılık ve direnç durumları

Antibiyotik Adı	Duyarlı N (%)	Orta Duyarlı N (%)	Dirençli N (%)
Siprofloksasin	63 (47.30)	3 (2.25)	67 (50.30)
Trimetoprim- Sulfametaksazol	76 (57.15)	1 (0.75)	56 (42.10)
Sefazolin	115 (86.45)	- (0.0)	18 (13.55)
Amoksisilin-Klavunik Asit	120 (90.20)	- (0.0)	13 (9.80)
Norfloksasin	122 (91.70)	- (0.0)	11 (8.30)
Gentamisin	126 (94.70)	- (0.0)	7 (5.30)
Sefuroksim	126 (94.70)	- (0.0)	7 (5.30)
Nitrofurantoin	126 (94.70)	- (0.0)	7 (5.30)
Piperasilin-Tazobaktam	119 (89.40)	7 (5.30)	7 (5.30)
Sefotaksim	126 (94.70)	- (0.0)	7 (5.30)
Fosfomisin	127 (95.50)	- (0.0)	6 (4.50)
Sefepim	127 (95.50)	- (0.0)	6 (4.50)
Sefaperazon-Sulbaktam	122 (91.75)	5 (3.75)	6 (4.50)
Ampisilin-Sulbaktam	124 (93.23)	4 (3.00)	5 (3.77)
Amikasin	127 (95.50)	3 (2.25)	3 (2.25)
Sefpodoksım	130 (97.75)	- (0.0)	3 (2.25)
Seftriakson	129 (97.00)	1 (0.75)	3 (2.25)
Aztreonam	132 (99.25)	- (0.0)	1 (0.75)
Kolistin	132 (99.25)	- (0.0)	1 (0.75)
İmipenem	132 (99.25)	- (0.0)	1 (0.75)

*Toplam izolat sayısı: n=133



Şekil 4. İzolatların antibiyotik dirençlilik oranları

4.3.1. Çift Disk Sinerji Testi Bulguları

Bu çalışmada GSBL tespiti için fenotipik doğrulama testi olarak çift disk sinerji yöntemi kullanıldı. CLSI önerilerine göre amoksisilin-klavulanik asit diski etrafına yerleştirilen antibiyotik diskleri arasında zonların kesiştiği bir inhibisyon alanı gözlenmesiyle yapılan ÇDST ile 133 izolatın %49.60'ı GSBL pozitif, %50.40'ı GSBL negatif olduğu tespit edildi (Tablo 12).

Tablo 12. GSBL pozitif ve GSBL negatif izolat oranları

GSBL	N (%)
Pozitif	66 (49.60)
Negatif	67 (50.40)

*Toplam izolat sayısı: n=133

4.3.2. GSBL Üreten ve Üretmeyen *E. coli* İzolatları Arasındaki Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Karşılaştırması

GSBL pozitif olarak saptanan 66 izolatın %71.1'i siprofloksasine, %63.6'sı trimetoprim-sulfametaksazole, %10.6'sı sefazoline, %9.1'i amoksisilin-klavulanik asit, gentamisin, norfloksasine ve piperasilin-tazobaktama dirençli olarak belirlenirken; diğer 13 antibiyotiğe karşı direnç oranlarının %6.0 ile %1.5 arasında değiştiği görüldü (Tablo 13).

GSBL negatif olarak saptanan 67 izolatın %29.8'i siprofloksasine, 23.9'u trimetoprim-sulfametaksazole, %16.4'ü sefazoline, %9.0'u amoksisilin-klavulanik asit ve norfloksasine, %8.5'i nitrofurantoinine dirençli olarak bulunurken; diğer 14 antibiyotiğin direnç oranları %6.0 ile %0.0 arasında değiştiği görüldü (Tablo 14).

GSBL üreten ve üretmeyen *E. coli* izolatlarının antibiyotik dirençlilik profilleri karşılaştırıldığında dirençli antibiyotiklerin sıralamasında büyük oranda benzerlik görülmekle birlikte, dirençlilik oranlarında farklılık bulunduğu; GSBL varlığında direnç oranlarının daha yüksek olduğu belirlendi. GSBL üreten ve üretmeyen izolatlardaki direnç oranlarının karşılaştırılması Şekil 5'te gösterilmiştir.

Tablo 13. GSBL pozitif izolatlarda antibiyotik duyarlık ve direnç oranları

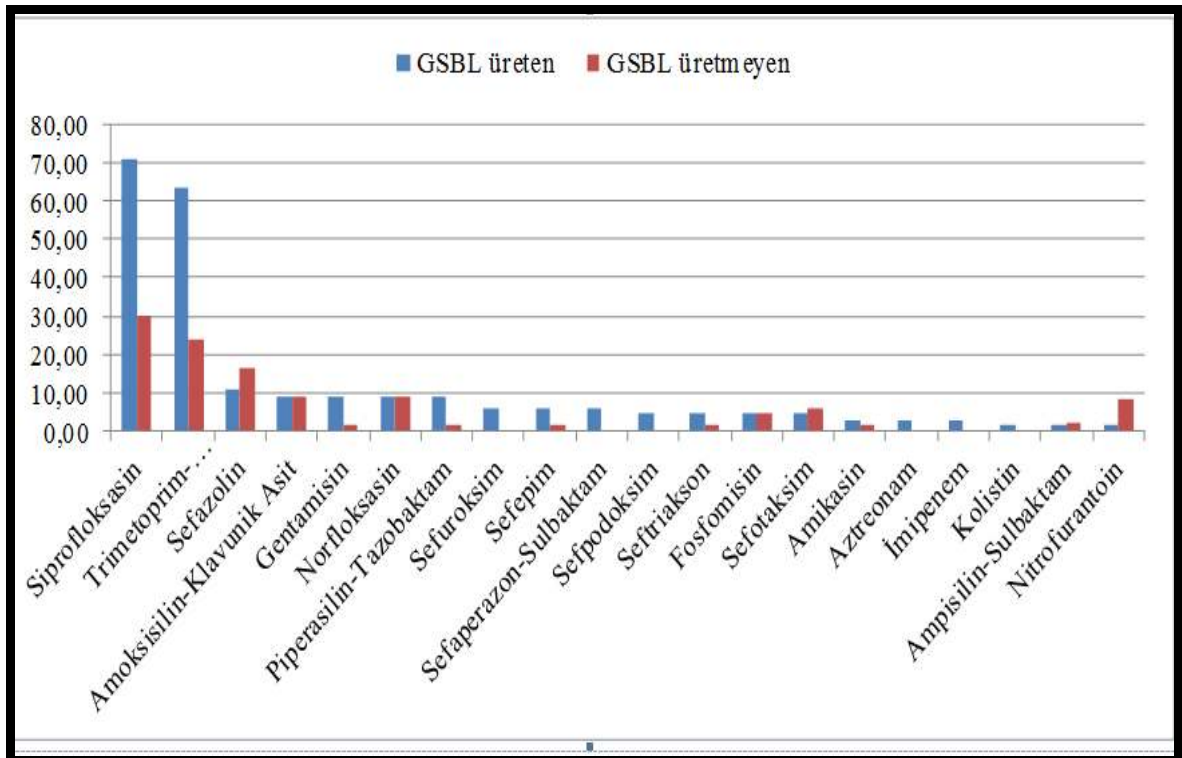
Antibiyotik Adı	Duyarlı N (%)	Orta Duyarlı N (%)	Dirençli N (%)
Siprofloksasin	19 (28.9)	- (0.0)	47 (71.1)
Trimetoprim- Sulfametaksazol	22 (33.4)	2 (0.0)	42 (63.6)
Sefazolin	59 (89.4)	- (0.0)	7 (10.6)
Amoksisilin-Klavunik Asit	60 (90.9)	- (0.0)	6 (9.1)
Gentamisin	60 (90.9)	- (0.0)	6 (9.1)
Norfloksasin	60 (90.9)	- (0.0)	6 (9.1)
Piperasilin-Tazobaktam	54 (81.2)	6 (9.1)	6 (9.1)
Sefuroksim	62 (94.0)	- (0.0)	4 (6.0)
Sefepim	62 (94.0)	- (0.0)	4 (6.0)
Sefaperazon-Sulbaktam	56 (84.9)	6 (9.1)	4 (6.0)
Sefpodoksım	63 (95.5)	- (0.0)	3 (4.5)
Seftriakson	63 (95.5)	- (0.0)	3 (4.5)
Fosfomisin	63 (95.5)	- (0.0)	3 (4.5)
Sefotaksim	63 (95.5)	- (0.0)	3 (4.5)
Amikasin	62 (94.0)	2 (3.0)	2 (3.0)
Aztreonam	64 (97.0)	- (0.0)	2 (3.0)
İmipenem	64 (97.0)	- (0.0)	2 (3.0)
Kolistin	65 (98.5)	- (0.0)	1 (1.5)
Ampisilin-Sulbaktam	65 (98.5)	- (0.0)	1 (1.5)
Nitrofurantoin	65 (98.5)	- (0.0)	1 (1.5)

*Toplam izolat sayısı: n=66

Tablo 14. GSBL negatif izolatlarda antibiyotik duyarlık ve direnç oranları

Antibiyotik Adı	Duyarlı N (%)	Orta Duyarlı N (%)	Dirençli N (%)
Siprofloksasin	44 (65.7)	3 (4.5)	20 (29.8)
Trimetoprim- Sulfametaksazol	51 (76.1)	- (0.0)	16 (23.9)
Sefazolin	56 (83.6)	- (0.0)	11 (16.4)
Amoksisilin-Klavunik Asit	61 (91.0)	- (0.0)	6 (9.0)
Norfloksasin	61 (91.0)	- (0.0)	6 (9.0)
Nitrofurantoin	61 (91.5)	- (0.0)	6 (8.5)
Sefotaksim	63 (94.0)	- (0.0)	4 (6.0)
Fosfomisin	64 (95.5)	- (0.0)	3 (4.5)
Ampisilin-Sulbaktam	61 (91.5)	4 (6.4)	1 (1.5)
Gentamisin	66 (98.5)	- (0.0)	1 (1.5)
Piperasilin-Tazobaktam	66 (98.5)	- (0.0)	1 (1.5)
Sefepim	66 (98.5)	- (0.0)	1 (1.5)
Seftriakson	66 (98.5)	- (0.0)	1 (1.5)
Amikasin	66 (98.5)	- (0.0)	1 (1.5)
Sefuroksim	67 (100.0)	- (0.0)	- (0.0)
Sefaperazon-Sulbaktam	67 (100.0)	- (0.0)	- (0.0)
Sefpodoksım	67 (100.0)	- (0.0)	- (0.0)
Aztreonam	67 (100.0)	- (0.0)	- (0.0)
İmipenem	67 (100.0)	- (0.0)	- (0.0)
Kolistin	67 (100.0)	- (0.0)	- (0.0)

*Toplam izolat sayısı: n=67

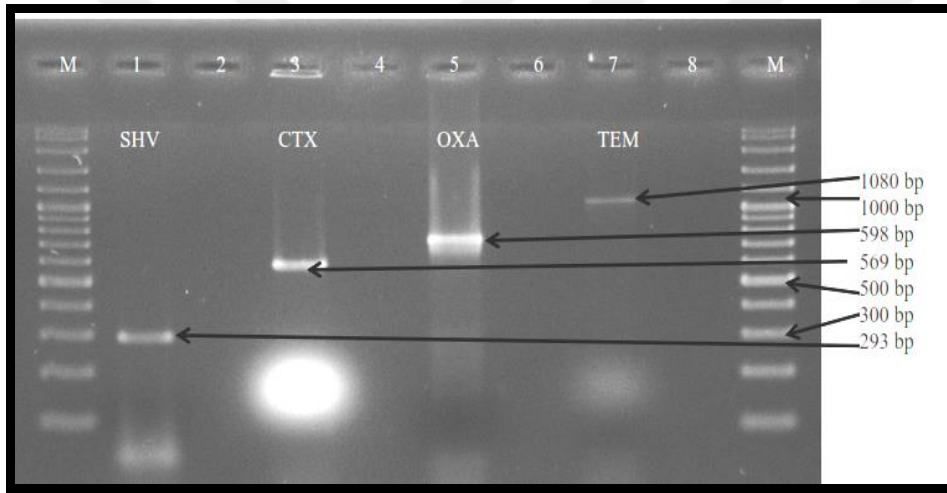


Şekil 5. GSBL üreten ve üretmeyen *E. coli* izolatların antibiyotik direnç oranlarının karşılaştırılması

4.4. Moleküler Bulgular

4.4.1. GSBL Enzim Tiplerinin PZR İle Analizi

İzole ve identifiye edilen 133 *E. coli* izolatının GSBL enzim geni taşıyıp taşımadıkları PZR ile incelendi. GSBL enzimlerinin tiplendirilmesi için TEM, SHV, CTX-M ve OXA primerleri kullanıldı. Yüz otuz üç izolatın %59.4 (79 izolat)'ü incelenen GSBL genlerinden en az bir tanesini taşıyordu. TEM primerleriyle izolatların %32.3'ü 1080 bp büyüklüğünde, CTX-M primerleriyle izolatların %31.6'sı 569 bp büyüklüğünde, OXA primerleriyle izolatların %21.1'i 598 bp büyüklüğünde, SHV primerleriyle izolatların %2.3'ünün 293 bp büyüklüğünde PZR ürünü oluşturduğu tespit edildi (Resim 5, Tablo 15).



Resim 5. 1-3-5-7: GSBL (SHV, CTX, OXA, TEM) pozitif izolatların jel elektroferez görüntüleri. **2-4-6-8:** Negatif Kontrol (DNA'sız mastermiks) **M:** 100 bp DNA ladder (Vivantis)

Tablo 15. TEM, SHV, CTX-M ve OXA primerleriyle pozitif reaksiyon veren izolatların sayı ve oranları

<i>E. coli</i>	TEM tipi GSBL	CTX-M tipi GSBL	OXA tipi GSBL	SHV tipi GSBL	GSBL pozitif izolat sayısı
N (%)	43 (32.3)	42 (31.6)	28 (21.1)	3 (2.3)	79 (59.4)

*PZR ile tespit edilen 79 GSBL (+) izolatta toplamda 116 gen tespit edilmiştir.

GSBL genleri varlığını belirlemek için pozitif kontrol suşu temin edilemediğinden, bu dört gen (*bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*OXA, *bla*SHV) için, PZR ile pozitif olarak tespit edilen saha izolatlarının DNA'larının çoğaltılması ile elde edilen amplikonlar sekanslandı. Sekans sonucu olarak bu genleri taşıdıkları belirlenen izolatların DNA'ları PZRlarında

pozitif kontrol olarak kullanıldı. İlgili genlere ait sekans sonuçları aşağıda (Resim 6-Resim 9) gösterilmiştir.

☐ Escherichia coli isolate transconjugant Tx100 plasmid pJIE100 multi-resistance region	1890	1890	97%	0.0	99%	NG_037754.1
☐ Escherichia coli plasmid pHND beta-lactamase (blaTEM-1) and 16S rRNA methylase (rmlB) genes, complete cds; and ISCR1 (orf513) gene, parti	1890	1890	97%	0.0	99%	NG_036706.1

Resim 6. *bla*TEM geni sekans analizi sonucu

☐ Uncultured bacterium clone TRE-1.76 extended spectrum beta-lactamase CTX-M (blaCTX-M) gene, complete cds	82.4	82.4	89%	5e-13	92%	KJ802712.1
☐ Escherichia coli strain CA28 plasmid pCA28, complete sequence	80.5	80.5	78%	2e-12	94%	CP009232.1

Resim 7. *bla*CTX-M geni sekans analizi sonucu

☐ Escherichia coli strain CA14 plasmid pCA14, complete sequence	1016	1016	98%	0.0	99%	CP009231.1
☐ Escherichia coli strain ECO2 class D beta-lactamase OXA-1 (blaOXA) gene, blaOXA-1 allele, complete cds	1016	1016	98%	0.0	99%	KP760835.1

Resim 8. *bla*OXA geni sekans analizi sonucu

☐ Klebsiella pneumoniae strain E296 plasmid extended spectrum beta-lactamase (blaSHV-28) gene, partial cds	455	455	92%	2e-124	98%	KJ815124.1
☐ Escherichia coli strain E101 plasmid beta-lactamase (blaSHV-148) gene, partial cds	455	455	92%	2e-124	98%	KJ815123.1

Resim 9. *bla*SHV geni sekans analizi sonucu

İncelenen 133 izolatın GSBL pozitifliği fenotipik ve genotipik yöntemler ile karşılaştırıldığı zaman izolatların %49.7 (66 izolat)'sinin fenotipik, %59.4 (79 izolat)'ünün genotipik olarak pozitif olduğu belirlenirken her iki yöntemle de pozitif olan izolat oranı %34.6 (46 izolat) idi.

4.4.2. *E. coli* P Fimbria Genlerinin Analizi

İzole ve identifiye edilen 133 *E. coli* izolatının P fimbria geni taşıyıp taşımadıkları PZR ile incelendi. P fimbria tiplerini belirleyebilmek için *papA* ve *papG* (allel I, allel II, allel III) primerleri kullanıldı.

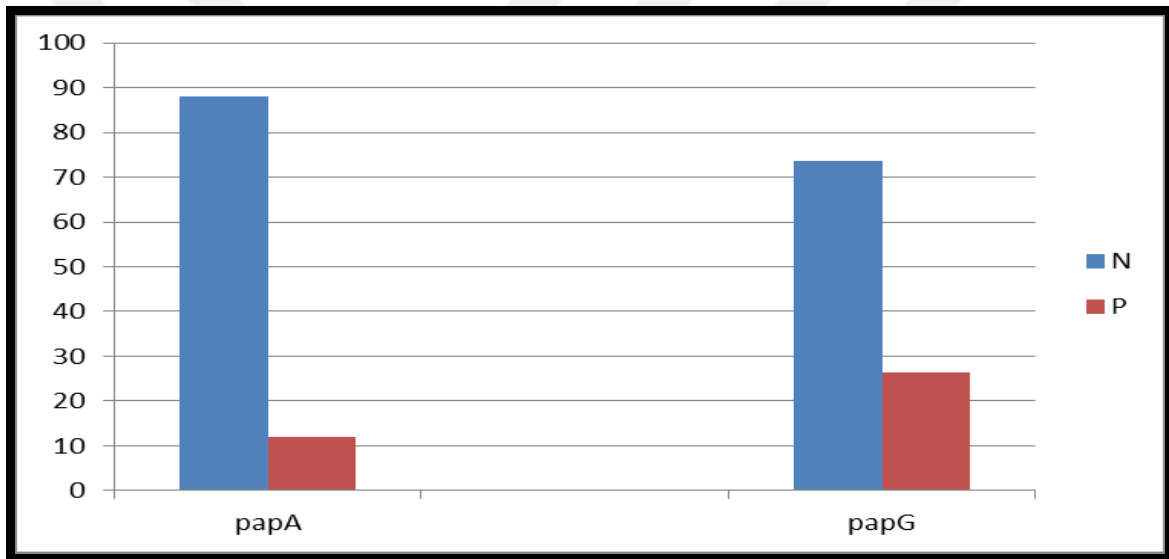
papA ve *papG* primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR sonucunda 133 *E. coli* izolatının %27.0 (36 izolat)'sinde toplamda 51 tane *pap* (*papA*+*papG*) geni belirlenirken; bunların %12.0 'sinin *papA*, %26.3'ünün *papG* olduğu saptandı (Tablo 17, Şekil 6). *papA*

primerleri kullanılarak 720 bp, *papG* allel I primerleri kullanılarak 461 bp, *papG* allel II primerleri kullanılarak 190 bp, *papG* allel III primerleri kullanılarak 258 bp büyüklüğünde PZR ürünü oluşturduğu tespit edilirken; *papG* allel II ve *papG* allel III'ün birlikte saptanması için gerçekleştirilen PZR sonrasında 1070 bp büyüklüğünde PZR ürünü oluşturduğu belirlendi (Resim 10).

Tablo 16. *E. coli* izolatlarında *papA* ve *papG* bulunma oranları

	<i>papA</i> N (%)	<i>papG</i> N (%)
Negatif	117 (88.0)	98 (73.7)
Pozitif	16 (12.0)	35 (26.3)

*Toplam izolat sayısı: n=133



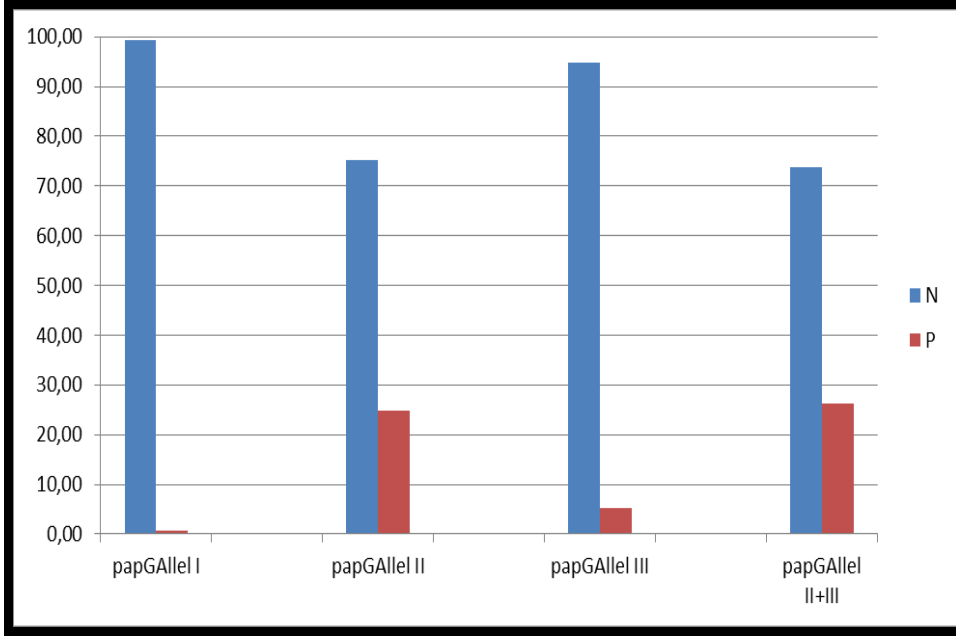
Şekil 6. *E. coli* izolatlarında *papA* ve *papG* bulunma oranları

papG allel tiplerinin dağılımına bakıldığında ise izolatların %0.75'i (1izolat) *papG* allel I, %24.80'i *papG* allel II (33 izolat), %5.30'u *papG* allel III (7 izolat) taşıdığı belirlenirken; *papG* allel II ve III birlikte izolatların %26.30 (35 izolat)'ünde saptandı Tablo 18, Şekil 7).

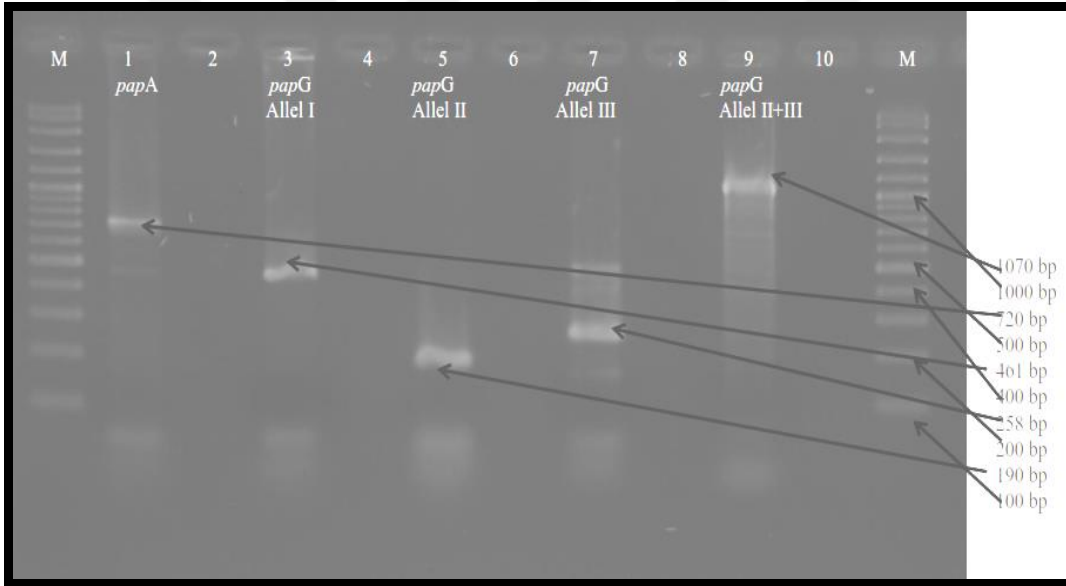
Tablo 17. *E. coli* izolatlarında *papG* allellerinin dağılımı

	<i>papG</i> allel I N (%)	<i>papG</i> allel II N (%)	<i>papG</i> allel III N (%)	<i>papG</i> allel II-III N (%)
Pozitif	1 (0.75)	33 (24.80)	7 (5.30)	35 (26.30)
Negatif	132 (99.25)	100 (75.20)	126 (94.70)	98 (73.70)

*Toplam izolat sayısı: n=133



Şekil 7. *E. coli* izolatlarında *papG* allellerinin dağılımı



Resim 10. *Pap* genlerinin jel elektroforez görüntüleri. **1:** *papA* pozitif izolat(720 bp) **3:** *papG* allel I pozitif izolat (461 bp) **5:** *papG* allel II pozitif izolat (190 bp) **7:** *papG* allel III pozitif izolat (258 bp) **9:** *papG* allel II-III pozitif izolat (1070 bp) **2-4-6-8:** Negatif Kontrol (DNA'sız mastermiks) **M:** 100 bp DNA ladder (Vivantis®)

Tüm *E. coli* izolatları içinde *papG* allellerinin dağılımını incelediğimizde *papG* allel II %24,80 oranı ile tüm *papG*'ler içinde en sık tespit edilen allel idi. *papA* geni taşıyan 16 izolatın 14'ü (%87.50) *papG* allel genlerinden en az bir tanesini taşıdığı belirlendi. *papG* alleli taşıyan 35 izolattın ise 14'ü (%40.00) aynı zamanda *papA* geni taşıdığı tespit edildi. *papG* allel III taşıyan 7 izolatın 5 (%86.00)'i aynı zamanda *papG* allel II'de taşıyordu. Bir izolatın da hem *papG* allel I hemde *papG* allel III taşıdığı saptandı.

pap genlerinin (*papA*, *papG* allel I, *papG* allel II, *papG* allel III) varlığını belirlemek için pozitif kontrol suşu temin edilemediğinden, bu dört gen için, PZR ile pozitif olarak tespit edilen saha izolatlarının DNA'larının çoğaltılması ile elde edilen ampikonlar sekanslandı. Sekans sonucu olarak bu genleri taşıdıkları belirlenen izolatların DNA'ları PZRlarında pozitif kontrol olarak kullanıldılar. İlgili genlere ait sekans sonuçları aşağıda (Resim 11-Resim 14) gösterilmiştir.

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐ Escherichia coli UMN026 chromosome, complete genome	279	279	92%	8e-72	94%	CU928163.2
☐ E.coli fliA gene	279	279	92%	8e-72	94%	Y08930.1
☐ Escherichia coli strain Ecor 66 adhesion protein PapA gene, complete cds	182	182	88%	2e-42	85%	AF247357.1

Resim 11. *papA* geni sekans sonucu

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐ E.coli papABCDEFGHIJK genes for F13 P-pili proteins	763	763	96%	0.0	99%	X61239.1
☐ E.coli papE, papF, and papG genes, complete cds, isolate J96	763	763	96%	0.0	99%	M20146.1
☐ E. coli papG gene encoding adhesin, complete cds, and papF gene, 3' end	763	763	96%	0.0	99%	M17317.1
☐ Escherichia coli isolate 5557(7U) PapG (papG) gene, papG-I allele, complete cds	708	708	96%	0.0	97%	AF237476.1
☐ Escherichia coli adhesion protein PapG gene, papG-I allele, complete cds	686	686	95%	0.0	96%	AF240678.1
☐ Escherichia coli isolate 5557(7U) PapG (papG) gene, papG-I allele, complete cds	560	560	93%	6e-156	91%	AF237471.1

Resim 12. *papG* allel I geni sekans sonucu

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐ Escherichia coli genome assembly NCTC9001, plasmid : 3	235	235	83%	1e-58	98%	LN831042.1
☐ Escherichia coli S88 chromosome, complete genome	235	235	83%	1e-58	98%	CU928161.2
☐ Escherichia coli APEC O1, complete genome	235	235	83%	1e-58	98%	CP000468.1
☐ Escherichia coli strain APEC 41 PapGII (papGII) gene, complete cds	235	235	83%	1e-58	98%	AY212280.1

Resim 13. *papG* allel II geni sekans sonucu

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐ Escherichia coli papG gene for P fimbrial adhesin PapG, strain 2017	385	385	96%	2e-103	98%	HE611574.1
☐ Escherichia coli papG gene for P fimbrial adhesin PapG, strain 256	385	385	96%	2e-103	98%	HE611573.1
☐ Escherichia coli papG gene for P fimbrial adhesin PapG, strain 2021	385	385	96%	2e-103	98%	HE611570.1
☐ Escherichia coli papG gene for P fimbrial adhesin PapG, strain 1299	385	385	96%	2e-103	98%	HE577318.1
☐ Escherichia coli isolate CP9 PapG (papG) gene, papG-III allele, complete cds	385	385	96%	2e-103	98%	AF237473.1

Resim 14. *papG* allel III geni sekans sonucu

4. 5. İstatistiksel Analiz

4.5.1. GSBL Üreten ve Üretmeyen İzolatlarda Antibiyotik Duyarlılık ve Dirençlilik Durumlarının Karşılaştırılması

GSBL üreten ve üretmeyen izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik durumlarını istatistiksel olarak karşılaştırmak için yapılan Ki Kare testi sonucunda siprofloksasin ve trimetoprim-sülfametaksazol antibiyotikleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$) (Tablo 18).

Tablo 18. GSBL üreten ve üretmeyen izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve direnç durumunun karşılaştırılması

Antibiyotik	Direnç-Duyarlılık	GSBL		χ^2	P
		- N (%)	+ N (%)		
Siprofloksasin	Duyarlı	44 (65.7)	19 (28.9)	16.371	.001*
	Orta Duyarlı	3 (4.5)	- (0.0)		
	Dirençli	20 (29.8)	47 (71.1)		
Trimetoprim-sülfametaksazol	Duyarlı	51 (76.1)	22 (33.4)	16.977	.001*
	Orta Duyarlı	- (0.0)	- (0.0)		
	Dirençli	16 (23.9)	42 (63.6)		

4.5.2. P Fimbria Taşıyan ve Taşımayan İzolatlarda Antibiyotik Duyarlılık ve Dirençlilik Durumlarının Karşılaştırılması

papA ve *papG* taşıyan ve taşımayan izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik durumları arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak karşılaştırmak için yapılan Ki Kare testi sonucunda siprofloksasin direnci ile *papG* varlığı arasında gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$) (Tablo 19). P fimbria varlığı ile diğer antibiyotikler arasında ise gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Tablo 19. P fimbria taşıyan ve taşımayan izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik durumlarının karşılaştırılması

		Siprofloksasin		X²	P
		Duyarlı (%)	Dirençli (%)		
<i>papA</i>	Yok	38 (88.4)	45 (95.7)	1.905	.386
	Var	5 (11.6)	2 (4.3)		
<i>papG</i>	Yok	27 (62.8)	42 (89.4)	9.478	.009*
	Var	16 (37.2)	5 (10.6)		
		Trimetoprim-sülfametaksazol		X²	P
		Duyarlı (%)	Dirençli (%)		
<i>papA</i>	Yok	47 (92.2)	37 (94.9)	.336	.845
	Var	4 (7.8)	2 (5.1)		
<i>papG</i>	Yok	36 (70.6)	33 (84.6)	2.753	.252
	Var	15 (29.4)	6 (15.4)		

TARTIŞMA

E. coli, idrar yolu enfeksiyonlarından en sık izole edilen patojenlerden birisidir. İdrar yolu enfeksiyonlarını ortadan kaldıracak için hastaya pek çok antibiyotik verilmektedir. Antibiyotik uygulamaları sonucu gelişen antibiyotik direnci, günümüzde yaygın ve yanlış antibiyoterapi uygulamaları sonucu görülen önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu direnç de büyük ölçüde genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar ile ilgilidir.

E. coli'nin üriner epitelde kolonizasyonunu ve persistansını kolaylaştıracak virulans faktörleri vardır. Bu virulans faktörleri çeşitli adezinleri içerir ve bu adezinler de esas olarak fimbrial kaynaklıdır, bunların en önemlilerinden birisi de piyelonefrit ile ilişkili fimbria (*pap*) olan P fimbriadır. Bu çalışmada, üriner sistem enfeksiyonu bulunan hasta idrarlarından izole edilen *E. coli* 'lerin antibiyotik dirençliliklerinin, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimlerinin ve piyelonefrit ile ilişkili fimbrialarının incelenmesi amaçlandı. UPEC'lerle ilişkili olduğu bildirilen P fimbria varlığının belirlenmesi ve izolatların antibiyotik dirençliliklerinin ortaya konulması, enfeksiyonlara karşı etkili kontrol çalışmalarının gerçekleştirilebilmesi ve dolayısıyla ekonomik kayıpları azaltmak için önemlidir.

İdrar yolu enfeksiyonlarında her yaş ve cinsiyette etken mikroorganizmalar içinde ilk sırayı (%40-%67) *E. coli* almaktadır (Özsüt, 2002). Bu çalışmada da örneklerden *E. coli* izolasyonu %49.6 olmakla birlikte bu izolasyon oranı diğer çalışmalarla uyumludur.

Kadınların %10-35'i yaşamları boyunca en az bir kez üriner sistem enfeksiyonu geçirmektedir (Özsüt, 2002). Dünyada üriner sistem enfeksiyon etkeni olarak *E. coli* 'lerin kadın hastalardan yüksek oranlarda (Yunanistan'da %84.0, Londra'da %85.7) izole edildiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Falagas ve ark, 2005; Bean ve ark, 2008). Yurdumuzda da durum pek de farklı değildir. Yapılan benzer çalışmalarda İstanbul'da %71.0 (Çitil ve ark, 2004), Kayseri'de %66.2 (Ekinci ve Günay, 2004), %79.2 (Taşdemir, 2009), Antalya'de %78.8 (Çoban ve ark, 2014) olarak kadınların üriner sistem enfeksiyonlarından izole edildiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada yukarıdaki çalışmalardaki oranlardan biraz daha düşük olmakla birlikte, benzer şekilde, Aydın yöresindeki kadın hastalarda *E. coli* izolasyonu %57.2 gibi nisbeten yüksek denebilecek bir oranda belirlenmiştir.

Yurdumuzda ve dünyada UPEC'lerin antibiyotik dirençlilikleri ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve yapılmaya da devam etmektedir. Fakat ülkelerin, bölge ve hatta hastane ya da klinik bazında duyarlılık profillerinin belirlenmesine ihtiyaç bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar ampirik tedavide kullanılan antibiyotikler için oldukça yüksek oranlarda direnç gelişmeleri olduğunu bildirmektedirler. Örneğin Amerika, İngiltere ve Güney Kore'de sırayla siprofloksasin için %10.4, %9.3, %4.1; trimetoprim-sülfametaksazol için %17.5, %39.3, %20.3; gentamisin için %7.6, %4.6, %26.7; amoksisilin-klavunik asit için %6.2, %12.0, %26.5 olarak bildirilmiştir (Karlowisky ve ark, 2003; Bean ve ark, 2008; Yun ve ark, 2013). Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda antibiyotik dirençlilik oranları Isparta, İstanbul, Aydın, Antalya'da sırayla siprofloksasin için %35.3, %80.6, %67.6, %9.4; trimetoprim-sülfametaksazol için %24.1, %0.0, %63.8, %43.1; gentamisin için %16.5, %47.3, %45.7, %13.1; amoksisilin-klavunik asit için %58.7, %75.0, %17.1, %34.8 oranlarında bildirilmiştir (Kaya, 2006; Taşdemir, 2009; Turan, 2011; Çoban, 2014). Isparta, Aydın ve Antalya'daki çalışmalarda norfloksasin için %43.5, %54.3, %9.6 bulunmuştur (Kaya, 2006; Turan, 2011; Çoban, 2014). Bu çalışmada da, hem yurdumuzdaki hem dünyadaki çalışmalara paralel bir şekilde izolatlarımızın %50.3'ünün siprofloksasine, %42.1'i trimetoprim sulfametaksazole, %13.5'inin sefazoline, %9.8'inin amoksisilin-klavunik asite, %8.5'inin norfloksasine dirençli oldukları belirlendi. Dolayısı ile yöremizde idrar yolu enfeksiyonlarının tedavilerinde en çok tercih edilen antibiyotiklerin siprofloksasin ve trimetoprim-sülfametaksazol olduğu görülmektedir. İmipenem, kolistin, aztreonam gibi antibiyotiklere ise dirençlilik yok denecek kadar azdır (%0.75). Bu nedenle tedavide artık direnç gelişiminin daha az olduğu bu antibiyotiklerden faydalanılabilir.

ÜSE'lerden en sık izole edilen üropatojen *E. coli*'nin en önemli direnç mekanizması olan GSBL enzimlerinin gerek toplum gerekse hastane kökenli izolatlarda ciddi şekilde üretiminin arttığı bilinmektedir. GSBL'lerin, plazmid ve transpozon aracılığı ile bir başka suşa aktarılabilmesi de, GSBL dirençli bu izolatların önemlerini daha da arttırmaktadır (Sinha ve ark, 2007).

E. coli izolatları arasında GSBL üretim sıklığı ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye hatta kurumdan kuruma değişmektedir. Amerika, Avrupa, Latin Amerika, Orta Asya'da GSBL pozitif prevelansının %3.0, %5.0, %10.0 ve %13.0 olduğu ve bu izolatlarda (%17.0, %7.0, %11.0, %14.0, %20.0, %18.0) *E. coli* saptandığı bildirilmektedir (Sinha ve ark, 2007).

Diğer yandan yapılan araştırmalarda *E. coli* suşlarındaki GSBL üretiminin görülme oranının yıllar için arttığı ve %1.0 ile %70 aralığında dikkat çekilmektedir (Yetkin ve ark, 2006; Güler ve ark, 2008; Deveci ve ark, 2010). Çeşitli ülkelerde de benzer çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada *E. coli* suşlarında GSBL bulunma oranının Güneydoğu Avusturya'da 1997'de hiç olmamasına rağmen 1998-2002'de %0.06-0.13; 2003'te %0.3; 2006'da %2.4 olarak tespit etmişlerdir (Badura ve ark, 2007). Pakistan'dan 2005 yılı ve 2009-2010 yılları içinde GSBL üretimin %34.0'ten %60.0'a yükseldiğini bildirmişler (Habeeb ve ark, 2013). İspanya'dan yaptıkları bir çalışmada ÜSE tanısı konmuş hastaların idrarlarından izole ettikleri *E. coli* suşlarında GSBL oranlarını 2005 yılı için %3.9, 2009 yılı için %7.3 ve 2011 yılı için ise %8.7 olarak vermiş ve GSBL üretim oranlarındaki yıllar içindeki artışa dikkat çekmişlerdir (Rodriguez-Avial, 2013). 2000 yılında Japonya genelinde 196 kurumda yaptıkları bir sörveyans çalışmasında %1'den az (Yagi ve ark, 2000), 2001-2003 yılları arasında İspanya'da bir çalışmada %3.4 (Oteo ve ark, 2005), Hindistan'da %60.0 (Narayanaswamy, 2011), 2007-2009 yılları arasında Kanada'da % 3.0 (Karlowski ve ark, 2011), Suudi Arabistan'da %33.0 (Al-Otaibi ile ark, 2013), İran'da %40.7 bildirilmiştir (Karimian ve ark, 2015). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda GSBL üretimin %3.4 ile %54.4 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (Özden ve ark, 2003; Bülünç ve ark, 2003; Delialioğlu ve ark, 2005; Gazi ve ark, 2007; Güdücüoğlu ve ark, 2007; Koçoğlu ve ark, 2007; Uyanık ve ark, 2009; Eryılmaz ve ark, 2010; Parlak ve ark. 2010). Aykan ve ark. (2013) çalışmalarında, taradıkları 101 makale sonucuna göre GSBL oranının 1996-2001 yılları arasında %8.09, 2002-2007 yılları arasında % 10.61 ve son olarak da 2007-2012 yılları arasında ise %28.17 olduğunu bildirmişlerdir. Bu analiz ülkemizde yıllar içersinde düzenli olarak GSBL üretimi artışının olduğunu göstermektedir. Yine Aydın'da bizimle aynı merkezde 2011 yılında yapılan bir çalışmada GSBL oranı %49.0 bildirilmiştir (Turan, 2011). Bu çalışmada çift disk sinerji testi sonucunda izolatların %49.6'sının GSBL üretimi pozitif olduğu saptanmıştır. Bu oranın ülkemizdeki diğer çalışmaların birçoğundan daha yüksek olduğu görülmekle birlikte en azından son beş yılda önemli bir direnç artışının olmadığını görmek sevindiricidir. Dünya geneliyle karşılaştırdığımızda direnç oranımız yukarıda belirtildiği üzere gelişmekte olan ülke direnç profiliyle benzerlik göstermektedir. Gelişmekte olan ülkelerde hastanın doktora başvurmadan antibiyotik kullanması, antibiyotik duyarlılık testi yapılmadan antibiyotik kullanımına başlanması ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin ampirik tedavide sıkça ve gereksiz kullanılması; direnç oranlarının neden gelişmekte olan ülkelere daha yüksek olduğunu açıklayabilmektedir.

İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen GSBL üreten *E. coli*'lerin tedavide kullanılan antibiyotiklere daha yüksek oranlarda dirençli oldukları dikkat çekmektedir. Siprofloksasin antibiyotik duyarlılığı en sık test edilen antibiyotiklerden biri olarak buna örnektir. İspanya'daki bir çalışmada *E. coli* izolatlarında GSBL pozitif ve negatif olmasına göre siprofloksasin direncini %89.1-%29.2 olduğunu bildirmişler (Radriguez ve ark, 2013). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalar içerisinde, GSBL üreten ve üretmeyen *E. coli* suşlarında siprofloksasin direnci Van'da %77.0-%28.0 (Güdücüoğlu ve ark, 2007), Malatya'da GSBL üretenlerde %71.6-28.4 (Kuzucu ve ark, 2010), Tokat'ta %68.8-%23.0 (Coşkun ve Coşkun, 2015), Aydın'da %70.6-%64.8 bildirilmiştir (Turan, 2011). Çalışmamızda ise bu oranlar GSBL pozitif izolatlarda %71.1 iken ve GSBL negatif izolatlarda %28.9 olarak belirlenmiş ve siprofloksasine direnç ile GSBL üretimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuçlar günümüzde artık siprofloksasinin özellikle GSBL üreten suşlarda efektif bir tedavi seçeneği olmadığını göstermektedir.

Bu çalışmada en yüksek dirençliliğin görüldüğü antibiyotiklerden biri de trimetoprim-sülfametoksazol direncidir. Geçmiş yıllarda yapılmış bir çalışmada GSBL pozitif *E. coli* izolatlarında trimetoprim-sülfametoksazol direnci %69.0 saptanmıştır (Mulvey, 2002). Dünya'da yapılan çeşitli çalışmalara örnek olarak GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* izolatlarında trimetoprim-sülfametoksazol direnci İran'da %76.9-%34.0 (Shayan, 2014), İspanya'da %60.0-%20.0 (Radriguez ve ark, 2013) bildirilmiştir. Ülkemizde GSBL üreten ve üretmeyen *E. coli* izolatlarında trimetoprim/sülfametoksazole karşı direnç Van'da %73.0-%52.0 (Güdücüoğlu ve ark, 2007), Aydın'da %86.3-%42.6 (Turan, 2011), Tokat'ta %53.1-%20.0 (Coşkun ve Coşkun, 2015) bulunmuştur. Çalışmamızda *E. coli* izolatlarında GSBL pozitif ve negatif izolatlarda trimetoprim-sülfametoksazol direnci %63.6-%23.9 oranında saptanmıştır. Yapılan ki-kare testinde trimetoprim-sulfametaksazole direnç ile GSBL üretimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuçlar diğer çalışmalarla uyumludur.

Aminoglikozid grubu antibiyotikler de GSBL üreten suşlarda duyarlılıkları sıklıkla test edilen antibiyotiklerdendir. GSBL pozitif *E. coli* izolatlarında gentamisin direnci İran'da %68.0 (Pourakbari ve ark, 2012), İspanya'da %24.0 (Radriguez ve ark, 2013), Çin'de %63.0 bildirilmiştir (Zhao ve ark, 2009a). Gelişmekte olan ülkelerle gelişmiş ülkeler arasında dirençlilik farklılıkları göze çarpmaktadır. Yurdumuzdaki benzer çalışmalarda *E. coli* izolatlarının GSBL pozitif izolatlarda gentamisin direnci %21.9-%70.6 aralığında, GSBL negatif izolatlarda %3.0-%22.2 aralığında çalışma sonuçları saptanmıştır (Güdücüoğlu, 2008; Turan, 2010; Sağlam, 2011; Uğur ve ark. 2013; Doğru ve ark, 2104;

Coşkun ve Coşkun, 2015). Bu çalışmada da GSBL pozitif ve negatif izolatlarda %9.1-%1.5 oranıyla diğer çalışmalara göre nispeten düşük dirençlilik saptanmıştır. Amikasin direncinde oranlar ise GSBL pozitif izolatlarda %0.0-%5.1; GSBL negatif izolatlarda %0.0-%2.0 arasında çalışmalar bildirilmiştir (Güdüçoğlu, 2008; Turan, 2011; Sağlam, 2011; Doğru ve ark, 2014). Bu çalışmada ise yurdumuzda bildirilen diğer çalışmalarla kıyaslandığında daha yüksek %3-%1.5 ama genel olarak değerlendirdiğimizde nispeten düşük aminoglikozid dirençleri belirlendi. Bu durum, popülasyonumuzda ÜSE tedavisinde gentamisin ve amikasinin daha az tercih edilmesine bağlı olabilir.

Üriner sistem enfeksiyonlarının tedavilerinde β laktamaz veya β laktamaz inhibitörü kombinasyonlu antibiyotik grupları da kullanılmaktadır. Amoksisilin-klavulonik asit direnci Afrikada yapılan bir çalışmada GSBL pozitif *E. coli* izolatlarında %19.0 saptanmış (Tansarli, 2013), yurdumuzda değişik illerde yapılan çalışmalarda ise %21.9-%56.3 arasında değişen direnç oranları bildirilmiştir (Mengeloğlu, 2011; Turan, 2011; Aykan, 2013; Coşkun ve Coşkun, 2015). Bu çalışmada ise %9.3 dirençle diğer çalışma merkezlerinden oldukça düşük bir direnç gözlenmiştir. Bu sonuç, amoksisilin-klavulonik asitin de yöremizde tedavide kullanılabileğini bununla birlikte bu antibiyotiğe karşı da direnç kazanımının başladığı söylenebilir. GSBL üreten *E. coli* izolatlarında piperasilin-tazobaktam duyarlılıkları yurtdışında yapılan bazı çalışmalarda %35.0-%36.3 olarak bildirilmiştir (Rodrigez ve ark, 2013; Shayan ve ark, 2014). Aykan ve ark.'nın meta analizinde piperasilin-tazobaktam için 1996-2001 yılları arasında %11.30, 2002-2006 yılları arasında %11.13 ve 2007-2012 yılları arasında %17.53 direnç olduğu bildirilmiştir. Van, Tokat, İstanbul ve Kayseri'de yapılan çalışmalarda %4.7-%59.0 arasında dirençlilik tespit edilmiştir (Güdüçoğlu, 2008; Sağlam, 2011; Doğru ve ark, 2014; Coşkun ve Coşkun, 2015). Bu çalışmadaki %8.9 piperasilin-tazobaktam direnci ile diğer çalışmalara göre daha düşük oranlar bulunmuştur. Yöremizdeki izolatların bu antibiyotiğe karşı diğer illere göre düşük olmakla birlikte direnç kazanmaya başladığı söylenebilir.

GSBL üreten suşların tedavisinde karbapenem grubu antibiyotikler hâlâ hem güvenilir olmaları hem de yüksek duyarlılık oranları nedeni ile sıkça kullanılmaktadır. Avrupa'da 2012 verilerine göre en yüksek imipenem direnci %2.6 ile Bulgaristan, diğer Avrupa ülkeleri ise %0.0-%1.4 arasında değişen ve oldukça düşük direnç oranlarında bulunduğunu bildirmektedirler (Anonim 1). Hindistan'daki bir çalışmada direnç ilginç bir şekilde %0.0 bildirilmiştir (Gupta, 2013). İmipenem direnci ile ilgili Türkiye'nin farklı merkezlerinde yaptıkları meta analizde 1996-2001 yılları için %4.16, 2002-2007 yılları için %2.3, 2008-2012 yılları için ise % 2.85 olduğu bildirilmiştir (Aykan ve ark. 2013). Yine,

ülkemizin değişik şehirlerinde yapılan çalışmalarda GSBL üreten izolatlarda %0.0-%5.0 arası olduğu GSBL üretmeyen izolatlarda ise bulunmadığı bildirilmiştir (Güdücoğlu, 2008; Sağlam, 2011; Uğur ve ark, 2013; Doğru ve ark, 2014; Coşkun ve Coşkun, 2015). Bu çalışmadaki imipenem duyarlılık oranı GSBL pozitif ve negatif %97.7-%100.0'dür. Sonuç olarak, yöremizde imipenemin *E. coli*'nin etken olduğu üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde etkin bir antibiyotik olduğu desteklenmiştir.

Üriner sistem enfeksiyonlarında ampirik tedavide en sık kullanılan antibiyotiklerden biri olan nitrofurantoin ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Çin'de GSBL üreten *E. coli* izolatlarında yapılan araştırmada %23.0'lük bir dirençle yurdumuza göre oldukça yüksek bulunmuştur (Zhao ve ark, 2009a). İran'da ise %6.0 olarak bildirilmiştir (Pourakbari ve ark, 2012). Hindistan'da yapılan çalışmada GSBL üreten ve üretmeyen *E. coli* izolatlarında nitrofrontain direnci %0.0-%2.8 olarak bildirilmiştir (Gupta, 2013). Afrika'daki çalışmada ise nitrofrontain direnci %38.5 rapor edilmiştir (Tansarli, 2013). Türkiye'de çeşitli merkezlerde yapılan bir meta analizinde 1996-2001 yılları arasında nitrofurantoin direnci %23.9, 2002-2007 yılları arasında %10.49, 2008-2012 yılları arasında ise %8.55 olarak verilmiştir (Aykan ve ark. 2013). Yine, çeşitli çalışma sonuçlarında GSBL üreten *E. coli* izolatlarında nitrofrontain direnci %4.7-%27.1, üretmeyenlerde %0.4-%16.0 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (Turan, 2011; Gülcan, 2012; Uğur ve ark, 2013; Doğru ve ark, 2014; Coşkun ve Coşkun, 2015). Çalışmamızda, GSBL pozitif ve negatif izolatlarda nitrofrontain direnci %2.2 ve %8.5 ile oldukça düşüktür, bu nedenle nitrofurantoinin tercih edilebilecek antibiyotiklerden birisi olduğu söylenebilir.

ÜSE'lerde tedavisinde önerilen antibiyotikler arasında sefalosporinlerde kullanımda olan antibakteriyel ajanlardır. Avrupa'da 3. kuşak sefalosporinlere karşı direncin %4.4 oranı ile en düşük tespit edildiği ülke ile İsveç, en yüksek direnç ise %38.1 oranı ile Bulgaristan'dan bildirilmiştir (Anonim 1). İran'daki çalışmada seftriakson, sefiksim ve sefuroksime sırayla %36.0, %50.0, %50.0 oranlarında direnç bulunduğu bildirilmiştir (Pourakbari ve ark, 2012). Mardin'de yapılan bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* izolatlarında direnç; sefalotin, seftazidim, sefotaksim, sefepim ve sefoksitin, sefuroksim sırayla %77.8, %77.8, %72.2, %88.9, %33.3, %72.2 iken GSBL üretmeyenlerde sırasıyla %37.4, %15.8, %7.2, %13.7, %14.4, %36.0 olarak bildirilmiştir (Deveci ve ark, 2010). Bu çalışmada GSBL üreten *E. coli* izolatlarında direnç sefepim, sefpodoksim, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson sırasıyla %6.7, %4.5, %6.8, %4.4, %4.5

iken GSBL üretmeyenlerde oran %2.1, %0.0, %4.3, %6.4, %6.4 saptanmıştır ve bu oranlar diğer çalışmalara göre oldukça düşük görünmektedir.

Fosfomisinin idrarda yüksek konsantrasyonun yüksek olması, tek doz kullanım kolaylığı, başka antibiyotiklerle çapraz direnç oranlarının düşük olması avantajlarıyla komplike olmayan ÜSE'lerin tedavisinde ilk tercih edilen antibiyotiklerdendir (Falagas ve ark, 2008). Pakistan'da yapılan bir çalışmada direnç %5.8 (Habeb ve ark, 2013), Hindistan'da %0.0 bildirilmiştir (Gupta ve ark, 2013). Yurdumuzda yapılan çeşitli merkezlerdeki çalışmalarda fosfomisin direnci GSBL üreten ve üretmeyen izolatlarda %0.0-%11.8 ve %0.0-%0.3 arasında değişen direnç oranları bildirilmiştir (Güdüçoğlu, 2008; Turan, 2011; Mengeloğlu ve ark. 2013). Bu çalışmada GSBL üreten ve üretmeyen suşlarda sırasıyla %4.4 ve %4.3 oranında direnç tespit edilmiştir. Belirtilen düşük direnç oranları ve oral kullanım kolaylığı gibi avantajlar düşünüldüğünde fosfomisin ÜSE'lerin tedavisinde kullanılabilecek antibiyotikler içerisinde uygun bir seçenek gibi görünmektedir.

Çalışmamızda izolatların antibiyotik duyarlılık profilleri dikkate alındığında *E. coli* nedeni ÜSE'lerinin tedavisinde nitrofurantoin, ampisilin-sulbaktam, kolistin, imipenem, aztreonam, amikasin gibi duyarlılıkları nispeten yüksek antibiyotiklerin tercih edilmesi ile tedavide başarı oranının yükselebileceği söylenebilir.

Genel olarak bu çalışmada, siprofloksasin dışındaki antibiyotik direnç oranları gelişmiş ülkelere yakın olarak tespit edilmiştir. Aydın ilindeki üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli*'lerde antibiyotiklere direnç oranları gelişmiş ülkelerdeki direnç profilleri ile benzerdir. Bu durum Aydın'ın sosyoekonomik düzeyinin yüksek olması, halkın bilinçli olması ve bu nedenle antibiyotik kullanımının uygun olmasından kaynaklanabilir. Sonuç olarak tedavide bu durumun gözönüne alınması gerektiği açıktır.

GSBL enzimi sentezleyen izolatlarda en sık rastlanan β -laktamazların TEM, CTX-M, OXA ve SHV enzimleri olduğu bildirilmektedir (Bayramoğlu ve ark, 2014). Ankara'da *E.coli* izolatlarında yapılan bir çalışmada GSBL gen taramalarında *bla*CTX-M %71.4, *bla*TEM %49.4, *bla*SHV ise %46.7 olarak saptanmıştır (Gür ve ark, 2008). İstanbul'da yapılan bir çalışmada ise GSBL üreten *E. coli* izolatlarında *bla*CTX-M, *bla*TEM ve *bla*SHV genleri bulunma oranlarını sırasıyla %83.3, %66.7 ve %25.0 olarak saptamışlardır (Öksüz ve Gürler, 2009). Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli*'lerde İzmir'de yapılan bir çalışmada GSBL dirençlilik genlerinden *bla*OXA geni bulunmadığı bildirilirken %73.43 *bla*TEM, %21.87 *bla*SHV ve %17.18 *bla*CTX-M geni varlığı

bildirilmiştir (Bali ve ark, 2010). Antalya’da ise %79.0 *bla*CTX-M, %50.0 *bla*TEM, %7.0 *bla*SHV geni saptanırken yine *bla*OXA geni tespit edilememiştir (Dağlar ve ark, 2010). Malatya’da yapılan bir çalışmada ise yine *bla*CTX-M %89.5 gibi yüksek bir oranda saptanmış bunu %59.2 ile *bla*TEM, %19.7 *bla*OXA ve %11.8 *bla*SHV direnç geni varlığı izlediği bildirilmiştir (Görgeç ve ark, 2015). Yurtdışında farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda da GSBL direnç genleri farklı oranlarda bildirilmiştir. İspanya’da bir çalışmada *E. coli* suşlarında *bla*CTX-M, *bla*SHV ve *bla*TEM oranlarını sırasıyla %64.0, %18.0 ve %18.0 olarak raporlanmıştır (Bano ve ark, 2004). Yine İspanya’da yapılan bir çalışmada izolatların %52.2’si *bla*CTX-M geni, %28.4’ü *bla*SHV, %19.3’ü *bla*TEM taşıdığı bildirilmiştir (Hernandez ve ark, 2005). Tayland’da yapılan bir çalışmada GSBL üreten 235 *E. coli* suşunda %87.0 *bla*CTX-M, %77.0 *bla*TEM, %33.0 *bla*OXA, %3.8 *bla*SHV gen varlığı bildirilmiştir (Kiratisin ve ark, 2008). İran’daki bir çalışmada da GSBL genleri *bla*TEM %7.4, *bla*OXA %39.0, *bla*CTX-M %37.9, *bla*SHV geni %1.9 olarak bildirilmiş (Karimian ve ark, 2015). İran’da başka bir araştırmada ise GSBL pozitif 73 izolattan %98.6 *bla*CTX-M, %45.2 *bla*OXA, %22.0 *bla*TEM, %4.0’ü *bla*SHV geni taşıdığı rapor edilmiştir (Shayan ve ark, 2014). Dünya genelinde en yaygın GSBL kodlayan dirençlilik geni *bla*CTX-M iken genel olarak Avrupa’da baskın olan genler ise *bla*TEM ve *bla*SHV türleri gösterilmektedir (Livermoore, 2007). Çin’de bir çalışmada izolatlarda %66.6 *bla*TEM, %70.0 *bla*CTX-M ve %5.3 *bla*SHV geni belirlenirken; *bla*OXA tipi GSBL geni taşıyan izolat tespit edilememiştir (Wang ve ark, 2013). Bizim çalışmamızda da izolatların %32.3’ünde *bla*TEM, %31.6’sında *bla*CTX-M, %21.1’inde *bla*OXA, %2.3’ünde *bla*SHV geni olduğu belirlenmiştir. Diğer çalışmalarla uyumlu olarak baskın gen *bla*TEM ve *bla*CTX-M olduğu bulunmuştur. Tespit ettiğimiz GSBL dirençlilik gen oranları Dünya’da ve yurdumuzdaki oranlardan daha düşüktür. Sebebi, diğer çalışmaların çoğunlukla GSBL üreten izolatlarda yapılmış olması olabilir.

İncelenen 133 *E. coli* izolatının GSBL pozitifliğinin belirlenmesinde fenotipik ve genotipik yöntemleri karşılaştırdığımızda izolatların %49.7’sinin fenotipik, %59.4’ünün genotipik olarak pozitif olduğu belirlenirken her iki yöntemle de pozitif olan izolat oranı %34.6 idi. Bu konuyla ilgili yapılan çalışmalarda genotipik PZR sonuçlarının fenotipik ÇDST’ne göre daha güvenilir olduğunu gösterilmiştir. Steward ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada *K. pneumoniae* suşlarında ÇDST ile belirlenen GSBL pozitiflik oranı %84.2 iken PZR ile belirlenen GSBL pozitiflik oranının %99.3 olduğu saptamışlardır. Benzer şekilde, Bali (2010) ÇDST’de %69.0 GSBL pozitif iken, PZR yöntemi ile izolatların %71.2’sini pozitif olarak belirlemiştir. Çalışmamızda elde edilen verilere dayanarak, PZR

ile ÇDST sonuçlarının duyarlılığı birbirine çok yakın olmasına rağmen, PZR yönteminin ÇDST'ye göre daha güvenilir bir yöntem olduğu görülmüştür. Mikrobiyoloji laboratuvarında PZR yönteminin kullanımının zor ve zahmetli olması, ayrıca PZR'nin ekonomik boyutu, ÇDST gibi kolay, pratik, ucuz ve duyarlılığı yüksek bir yöntemin kullanılmasını daha elverişli kılmaktadır.

P fimbria ÜSE olan hastalardan izole edilen *E. coli* 'lerde sıklıkla bildirilmektedir. P fimbria, *papA* adı verilen temel fimbrial alt ünitesi ve ucunda da *papG* adı verilen fimbrial adezinden oluşmaktadır. P fimbriaların en az 11 alt tipi olduğu ve bunların da temel fimbrial alt ünitelerindeki antijenik farklılıklara dayanarak ayrımlarının yapıldığı bildirilmektedir. P fimbrianın reseptör spesifitesi *papG* adezini ile sağlanmaktadır ki, bu çalışmada sınıf I, II ve III varyantı identifiye edilmiştir (Kallenius ve ark, 1981). UPEC'lerde P fimbria bulunma oranı yurtdışında yapılan bir çalışmada %32.0-%74.0 arasında değiştiği bildirilmiştir (Hull ve ark, 1998; Bogyiová ve ark, 2002). Yurdumuzda da Ankara'da %22.9 (Arısoy ve ark, 2006), Aydın'da %37.0 (Turan, 2011), İzmir'de %32.0 olarak tespit edilmiştir (Giray ve ark, 2012). Bu çalışmada, *pap* primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR sonucunda 133 *E. coli* izolatının %27.0 (36 tanesinde)'sinde toplamda 51 tane *pap* geni tespit edildi. Bu sonuçlar, Dünya ve yurdumuzdaki oranlarla paralellik göstermektedir.

İspanya'da 100 UPEC izolatı arasında da *papA* %74.0, *papG* allel II %62.0, *papG* allel III %21.0 olarak bildirilmiştir (Moreno ve ark, 2005). Güney Kore'de 64 izolatta *pap* genlerinin oranları *papA* %45.3, *papG* allel I %0.0, *papG* allel II %28.1, *papG* allel III %10.9 olarak bildirilmiştir (Yun ve ark, 2013). Brezilya'da 162 UPEC izolatı içerisinde *papG* allel I %0.0, *papG* allel II %17.9, *papG* allel III %17.2 olarak tespit edilmiştir (Tıba, 2008). Fransa'da *papG* allel II %67.0, *papG* allel III %6.0 olarak bulunmuştur (Houdouin ve ark, 2006). Çin'de 202 GSBL pozitif suş üzerinde yapılan çalışmada *papA* %54.0, *papG* allel I %14.0, *papG* allel II %38.0, *papG* allel III %8.0 bulunmuştur (Zhao ve ark, 2009a). Yurdumuzda da *pap* genlerinin varlığı ile ilgili farklı çalışmalarda yine farklı oranlar bildirilmiştir. Örneğin İzmir'de *papG* allel I %0.0, *papG* allel II %29, *papG* allel III %33 olarak bildirilmiştir (Giray ve ark, 2012). Aydın'da GSBL pozitif izolatlarda %37.3 *papA*, %14.3 *papG* oranlarında tespit edilmiştir. GSBL negatif izolatlarda ise %35.2 *papA*, %16.7 *papG* tespit edilmiştir (Turan, 2011). Bu çalışmadaki tüm izolatlarımızda %12 *papA*, %26.3 *papG* bulunduğu saptanmıştır. *papG* allelleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise *papG* allel II'nin %24.80 ile ilk sırada yer aldığı bunu %5.30 ile *papG* allel III ve %0.75 ile *papG* allel I'in izlediği tespit edilmiştir. Dünya'da ve

Türkiye’de yapılan çalışmalarda P fimbria bulunma oranları çalışmanın yapıldığı yerlere göre değişiklik göstermektedir. Benzer olarak, Aydın’da aynı hastanede yapılan çalışmayla (Turan, 2011) bu çalışma orasında oranların oldukça birbirine yakın olduğu dikkat çekmektedir. Dünyada yapılan diğer çalışmalarda bu çalışmadaki gibi *papG*’de daha yüksek oranlar saptanmıştır. Fakat bu çalışmadaki *papA* oranları diğer çalışmalardan daha düşük bulunmuştur. Bunun sebebi yurtdışındaki çalışmalar genellikle pyelonefritli hastalardan izole edilen *E. coli*’ler üzerinde yapıldığından kaynaklanabilir. Bu çalışma ile yöremizdeki *E. coli* izolatlarında *papG* allel II’nin daha yoğun bir şekilde bulunduğu saptanmıştır.

Çin’de yapılan bir çalışmada *papA* ve *papG* taşıyan ve taşımayan izolatlarda antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik durumları arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak karşılaştırmak için yapılan Ki Kare testi sonucunda sefotaksim direnci ile *papA* varlığı arasında gruplar arasında anlamlı farklılık saptandığı tespit edilmiş ayrıca çalışmada sefotaksim dirençli izolatlarda *papA* varlığı %78 olarak bildirilmiştir (Zhao ve ark, 2009). Yurdumuzda yapılan benzer çalışmalarda da *papG* varlığı ile siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametaksazol dirençliliği arasında bir ilişki olduğu rapor edilmiştir (Arısoy ve ark, 2006; Giray ve ark, 2012). Bu araştırmada ise yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde siprofloksasin direnci ile *papG* varlığı arasında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0.05$).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Aydın ilindeki üriner sistem enfeksiyonları ve buna neden olan *E. coli*'ler için aşağıdakiler söylenebilir:

*Üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* oranı oldukça yüksektir.

*Kadınlarda üriner sistem enfeksiyonları erkeklerden daha sık görülmektedir.

**E. coli* nedenli üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde siprofloksasin, trimetoprim sulfametaksazol, sefazolin, amoksisilin-klavunik asit ve norfloksasine karşı direnç oranları yüksektir. Bu nedenle tedavide kullanılmaları doğru bir seçenek olarak görünmemektedir. Bunun yerine imipenem, kolistin, aztrenom, seftriakson, sefpodoksim, amikasin gibi duyarlılık oranı yüksek antibiyotikler tedavide kullanılabilir.

*GSBL üreten *E. coli* suşları hastanemizde önemli bir sorundur. GSBL pozitifliğinin hem fenotipik (%49.7) ve hem de genotipik (%59.4) yöntemler ile yüksek oranlarda olduğu saptanmıştır.

*Çalışmamızda elde edilen verilere dayanarak, izolatlarda GSBL enzim varlığının belirlenmesinde genotipik ile fenotipik sonuçlarının duyarlılığı birbirine nispeten yakın olmasına rağmen, genotipik yönteminin ÇDST'ne göre daha güvenilir bir yöntem olduğu daha fazla pozitifliği belirleyebildiği görülmüştür

* Yüksek antibiyotik direncine sahip izolatlar hastanemizde ve ilimizde yakın gelecekte hem toplum kaynaklı hem nazokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde ciddi sorunlar yaşanabileceğini düşündürmektedir.

* Tedavi başarısızlığı görülen idrar yolu enfeksiyonlarında GSBL olasılığı mutlaka düşünülmelidir. Tedavi başarısızlığını önlemek amacıyla; antibiyotik kullanma kalitesi iyileştirilmeli, antibiyotik kullanımı konusunda klinisyenler bilgilendirilmeli, bölgesel direnç oranları saptanmalı ve buna göre antibiyotik kullanım politikaları oluşturulmalıdır.

*Hastanemizde ÜSE'li hastalardan izole edilen *E. coli* izolatlarında GSBL genlerinden SHV tipi GSBL daha az sıklıkla rastlanılırken *bla*TEM, *bla*CTX-M ve *bla*OXA azımsanamayacak oranda yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar son yıllarda GSBL epidemisinde görülen eğilimi yansıtmaktadır. Ülkemizin Avrupa ülkeleri içinde GSBL sıklığı en yüksek olan ülkeler arasında yer alması, hastanelerde GSBL üreten bakterilerin sıklığının izlenmesini zorunlu kılmaktadır. GSBL'lerin hızlı artışı ve salgınlar, tedavinin başarısızlığı, artan ölüm oranları gibi ciddi sorunlara yol açması, doğru saptanmalarını ve

tiplendirilmelerini gerektirmektedir. GSBL epidemisinin toplumda ki prevalansını ve tiplerini saptamak bu karmaşık ve çok önemli enzim ailesini tanımamıza yardımcı olacaktır.

*İzolatlarımızda %27.0 gibi yüksek bir oranda piyelonefrit ile ilişkili pilus tespiti yapılmıştır. UPEC oluşmasında üroepitel hücrelere yapışarak hastalık oluşturmada etkili olan en önemli virulans faktörlerinin başında gelmesinden dolayı P fimbriyanın varlığı önemlidir ve bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

*Bu konu ile ilgili literatür bilgileri ve çalışmamızda elde edilen bulgular göz önüne alındığında, hastalarda *E. coli*'nin etken olduğu idrar yolu enfeksiyonu olanlarda GSBL varlığının araştırılarak trimetoprim-sulfametaksazol ve siprofloksasin kullanımının mutlaka antibiyogram yapıldıktan sonra karar verilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Hatta hastanelerde yatarak tedavi gören tüm ÜSE şüpheli hastalara herhangi bir tedavi uygulamadan önce *E. coli* ve GSBL varlığının araştırılarak antibiyotik tedavisine başlanmasının akılcı ilaç kullanımı açısından uygun olacağı düşünülmektedir. Buna ek olarak her hastanede uygulanan tedavi protokollerindeki antibiyotiklerin GSBL direnç oranlarının periyodik olarak saptanmalı ve hastanelerdeki tüm hekimlerin bu konu hakkında bilgilendirilmeli, mikrobiyoloji laboratuvarının da da kültür sonuçlarındaki direnç artışlarını takip etmeli, gerektiği zaman servisleri bu konuda uyarmalı, klinisyenler de ampirik tedavi uygulamalarında hassas olmalı ve antibiyogram sonucunun öneminin bilincinde olmalıdırlar.

*Çalışmada verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; i) GSBL üreten ve üretmeyen izolatlarda siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametaksazol antibiyotikleri açısından ii) siprofloksasin direnci ile *papG* varlığı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunduğu saptanmıştır ($p<0.05$)

*ÜSE olan hastalardan izole edilen özellikle GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının neden oldukları enfeksiyonlarda tedavi şansını arttırmak ve direnç genlerinin oluşma riskini azaltmak için; i) bu bakterideki virulans genlerinin dağılımı ve GSBL dirençlilik genleri ile ilişkilerinin ortaya konulması, ii) GSBL saptanan izolatlardan plazmit izolasyonu yapıp, bu plazmitlerin özellikleri incelenerek GSBL üretimine katkı sağlayıp sağlamadıkları ve iii) üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan *E. coli*'lerin neden oldukları USE'lerinin tedavilerinde bu patotipe özel virulans genlerine etkisi olabilecek yeni ilaçların geliştirilmesi gibi konularında detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Anonim 1.** (2012) Surveillance Report. Antimicrobial resistance surveillance in Europa 2012 www.ecdc.europa.eu
- Akçam FZ, Gönen I, Kaya O, Yaylı G.** Hastane infeksiyonu etkeni enterobakterlerde β - laktam antibiyotiklere duyarlılık ve ESBL sıklığının araştırılması. *Süleyman Demirel Tıp Fakültesi Dergisi* 2004, 11(1), 6-9.
- Akhan SÇ, Coskuncan F, Tansel O, Vahaboglu H.** Conjugative resistance to tazobactam plus piperacillin among extended-spectrum β -lactamase-producing nosocomial *Klebsiella pneumoniae*. *Scandinavian Journal of Infectious Disases* 2001, 33(7), 512-515.
- Akova Dikkat, M.** Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) varlığı. *Ankem Dergisi* 2004, 18, 98-103.
- Al-Otaibi FE, Bukhari EE.** Clinical and laboratory profiles of urinary tract infections caused by extendedspectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in a tertiary care center in central Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal* 2013, 34(2), 171-176.
- Arisoy M, Aysev D, Ekim M, Ozel D, Köse SK, Ozsoy ED, Akar N.** Detection of virulence factors of *Escherichia coli* from children by multiplex polymerase chain reaction. *International Journal of Clinical Practice* 2006, 60(2), 170-3.
- Aykan Ş, Çiftçi B, Hakkı İ.** Türkiye'de idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: Bir meta-analiz. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2013, 47(4), 603-618.
- Badura A, Feierl G, Kesler HH.** Resistant bacteria in Southeastern Austria. *Emerging Infectious Disases* 2007, 13(8), 1256-1257.
- Bali EB.** *Escherichia coli*, *Klebsiella* ve *Acinetobacter* Suşlarında Plazmit Veya Kromozomal Kaynaklı Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması Ve Moleküler Yönden İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2007, 39.
- Bali EB, Açık L, Sultan N,** Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum beta-lactamase produced by *Escherichia coli*, *Acinobacter baumannii* and *Klebsiella* isolates in a Turkish hospital. *African Journal Microbiology Research* 2010, 8(4), 650-654.
- Bano RJ, Navarro MD.** Epidemiology and clinical features of infections caused by extended spectrum betalactamase producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *Journal Clinical Microbiology* 2004, 42, 1089-1094.
- Baron EJ, Peterson LR, Finogold SM.** Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 9 ed. The CV, Toronto, 1994, 362.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology* 1966, 45, 493.
- Bayramoğlu G, Özgümüş O, Özgümüş B, Kolaylı F, Kamburoğlu A, Beşli Y, Dinç, U, Tosun İ, Aydın F.** Antimikrobiyotik direnci, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlarının karakterizasyonu. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2014, 48(2), 191-200.
- Bean DC, Krahe D, Wareham DW.** Antimicrobial resistance in community and nosocomial *Escherichia coli* urinary tract isolates, London, 2005 – 2006. *Annual Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2008, 7, 13.
- Bekar M.** Enterobacteriaceae Familyası Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri. Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Ankara. Yayın No: 97-105, 1997.

- Bergsten G, Samuelsson M, Wullt B ve ark.** Pap G-dependent adherence breaks mucosal inertia and triggers the innate host response. *Journal Infections Disases* 2004, 189, 1734-1742.
- Berkiten R.** *Escherichia*. Tıbbi Mikrobiyoloji-2. E.Bozkaya. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2005, s 65-69.
- Bilgehan H.** Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 10. Baskı. Barış Yayınları, İzmir, 2000, s 10-13.
- Bilgehan H.** Besiyerleri, Ayıraçlar ve Deneyler. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 3. Baskı, Güneş Kitapevi, İstanbul, 2002, s 649-712.
- Bogyiová E, Kmetová M, Biros E, Siegfried L.** Detection of pap-, sfa- and afa-specific DNA sequences in *Escherichia coli* strains isolated from extraintestinal material. *Folia Microbiology* 2002, 47(6),723-726.
- Bouguessa NR, Mendonic N, Leita J.** CTX-M-3 and CTX-M-15 Extended-spectrum beta-lactamases in isolates of *Escherichia coli* from a hospital in Algiers, Algeria. *Journal Clinical Microbiology* 2006, 44(12), 4584-4586.
- Boyd D.** Tyler S, Christianson S. Complete nucleotide sequence of a 92 kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 ESBL involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto, Canada. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy* 2004, 3758-3764.
- Bradford P.** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important threat. *Clinical Microbiology Reviews* 2001, 14, 933-951.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA.** Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology. 22. Newyork: McGraw- Hill, 2001, 146.
- Brumfitt W, Hamilton-Miller JMT, Bailey RR.** Urinary tract infections. London: Chapman and Hall Medical, Londra, 1998, 175-197.
- Bush K, Jacoby G.** Nomenclature of TEM β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1997, 39, 1-3.
- Bülünç M, Gürol Y, Bal Ç.** Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz oranları: 2000-2002. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2003, 33, 31-34.
- Büyüköztürk Ş.** Sosyal Bilimler İçin Veri Analizi El Kitabı. Tegem A Yayıncılık, Ankara, 2014, s 354-55.
- Chen J, Griffiths NW.** PCR differentiation of *Escherichia coli* from other gram-negative bacteria using primers derived from the nucleotide sequences flanking the gene encoding the universal stress protein. *Letters in Applied Microbiology* 1998, 27, 369-371.
- Chen HD, Frankel G.** Enteropathogenic *Escherichia coli*: Unravelling pathogenesis. *FEMS Microbiol Reviews* 2005, 29 (1), 83-98.
- Clements A, Yoereryung JC, Constantiniu N, Frankel G.** Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Microbes* 2012, 3, 71-87.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)** Performans standards for antimicrobial susceptibility testing: sixteenth informational supplement. 2012, M100-S22.
- Coşkun USŞ, Coşkun G.** Bir Devlet Hastanesinde poliklinik hastalarına ait idrar örneklerinden izole edilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz pozitif *Escherichia coli* suşlarının prevalans ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2015, 16, 25-30.
- Çoban B, Ülkü N, Kaplan H, Topal B, Erdoğan H, Baskın E.** Çocuklarda idrar yolu enfeksiyonu etkenleri ve antibiyotik dirençlerinin beş yıllık değerlendirmesi. Başkent Üniversitesi Alanya Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye. *Türk Pediatri Arşivi*, 2014, s 124.
- Çitil BE, Coplu N, Gozalan A, Oncul O, Karaca Y, Esen B.** Uriner sistem enfeksiyonu etkenlerinin iki yıllık değerlendirmesi. In: 6. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve

Ozet Kitabı. İstanbul: *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 2004,152.

Dağlar D, Öngüt G, Ögünç D, Baysan Bö, Demirbakan H, Özen Ns, Gültekin M. Toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonu etkeni *Escherichia coli* suşlarında GSBL enzim tiplerinin izoelektrik odaklama ve polimeraz zincir reaksiyonu yöntemleri ile araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2010, 44, 367-374.

Delialioğlu N, Öcal ND, Emekdaş G. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinde genişlemiş spektrumlu betalaktamaz oranları. *Ankem Dergisi* 2005, 19 (2), 84-87.

Demir N. Gram Negatif Bakterilerde GSBL Üretimine Katkıda Bulunan Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Kartal Eğitim Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2006, 15-17.

Deveci Ö, Yula E, Tekin A. İdrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik direnci. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 2010, 1(3), 16.

Dieckhaus KD. Urinary Tract Infections In: Grace C. *Medical Management of Infectious Disease* 2003, 289-291.

Doğru A, Üçışık AC, Sargın F, Aydın Ö, Ergen P, Tükenmez Tigen E. İdrar örneklerinde üretilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları. *Göztepe Tıp Dergisi* 2014, 29(4), 219-224.

Donnenberg MS. Enterobacteriaceae. In: G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin (Eds.) Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia, PA, 2009, s 2815–2833.

Drews SJ, Poutanen SM, Mazzulli T, McGeer AJ. Decreased prevalence of virulence factors among ciprofloxacin-resistant uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Journal Clinical Microbiology* 2005, 4218–4220.

Eisenstein BI, Zaleznik DF. Enterobacteriaceae, In G. L. Mandell, J. E. Bennett, and R. Dolin, Principles and practice of infectious diseases, 5. ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000, s 2294-2310.

Ekinci E, Gunay O. Bazı semptom ve bulguların idrar yolu enfeksiyonu tanısındaki geçerliliğinin değerlendirilmesi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004, 13(1), 55-63.

Emody L, Kerenyi M, Nagi G. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2003, 22, 29-33.

Engelkirk PG. Gram negative bacilli: the family Enterobacteriaceae. In: Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. 2008, s 302.

Erdem B. *Escherichia coli*. Prof Dr. Semsettin Ustaçelebi Temel ve Klini Mikrobiyoloji, Günes Kitabevi, 1. Baskı, İstanbul, 1999, s 480- 485.

Eryılmaz M, Bozkurt ME, Yıldız MM, Akın A. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz sıklığının araştırılması. *Marmara Eczacılık Dergisi* 2010, 14, 10-12.

Falagas ME, Polemis M, Alexiou VG, Mastogiannaki A, Kremastinou J, Vatopoulos AC. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* urinary isolates from primary care patients in Greece. *Medical Science Monitor* 2008, 14(2), 75-79.

Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *The American Journal of Medicine* 2002, 113, s 5-13.

Gallardo F, Ruiz J, Marco F, Towner KJ, Vila J. Increase in incidence of resistance to ampicillin, chloramphenicol and trimethoprim in clinical isolates of *Salmonella* serotype typhimurium with investigation of molecular epidemiology and mechanisms of resistance. *Journal Medical Microbiology* 1999, 48, 367–374.

- Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S.** İdrar kültürlerinden izole edilen gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç. *Ankem Dergisi* 2007, 21,19-22.
- Gilbert DN.** Aminoglycosides.In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. In:Mandell , Douglas and Bennett's Principles and Practise of Infectious Diseases, 6th ed Philadelphia: Churchill Livinstone, 2005, s 953-1032.
- Giray B, Ucar F.B, Aydemir S.Ş.** Characterization of uropathogenic *Escherichia coli* strains obtained from urology outpatient clinic of Ege Medical Faculty in İzmir, *Turk Journal Medical Science* 2012, 42, 1328-1337.
- Görgeç S, Kuzucu Ç, Otlı B, Yetkin F, Ersoy Y.** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten nozokomiyal *Escherichia coli* İzolatlarında beta-laktamaz gen oranları ve klonal ilişkinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2015, 49(1), 15-25.
- Gunther NW, Snyder JA, Lockatell V, Blomfield I, Johanson DE, Mobley HL.** Assessment of virulence of uropathogenic *Escherichia coli* type 1 fimbrial mutants in which the invertible element is phase-locked on or off. *Infection and Immunity* 2002, 70, 3344-3354.
- Gupta V, Rani H, Singla N, Kaistha N, Chander J.** Determination of extended-spectrum β -lactamases and ampc production in uropathogenic isolates of *Escherichia coli* and susceptibility to fosfomycin. *Journal of Laboratory Physicians* 2013, 5 (2), 90-93.
- Güdücüoğlu H, Baykal S, İzci H, Berktaş M.** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere direnci. *Ankem* 2007, 3, 155-160.
- Gülay Z, Taşkıran A.** Beta laktamazlar, *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* Aralık 2001, 350.
- Gülay Z.** “ESBL’lerin tanı yöntemleri”, Yeni ve yeniden gündeme gelen infeksiyonlar Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ. (eds), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004, s 13-26.
- Gülcan A, Aslantürk A, Gülcan E.** İdrar kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve in vitro antibiyotik duyarlılık durumları. *Abant Medical Journal* 2012, 1(3), 129-135
- Güler Ö.** Klinik Örneklerden İzole Edilen Bakterilerde Beta- Laktamaz Varlığının Ve Çeşitli Antibiyotik Gruplarına Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniversitesi Erzurum, 2007, 36-37.
- Güler Ö, Aktaş O, Uslu H.** Klinik örneklerden izole edilen bakterilerde beta-laktamaz varlığının ve çeşitli antibiyotik gruplarına karşı duyarlılıklarının araştırılması. *ANKEM Dergisi* 2008, 22, 72-80.
- Gür D.** Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları, Onsekizinci Bilgi Eki, M100-S18, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2008.
- Gür D, Gülay Z, Akan OA ve ark.** Resistance to newer beta-lactams and related ESBL types in gram-negative nosocomial isolates in Turkish hospitals: results of the multicentre HITIT study. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2008, 42(4), 537-544.
- Habeeb MA, Sarwar Y, Ali A.** Rapid emergence of ESBL producers in *E. coli* causing urinary and wound infections in Pakistan. *Pakistan Journal of Medical Sciences* 2013, 29(2), 540-544.
- Hedges SR, Agace WW, Svanborg C.** Epithelial cytokine responses and mucosal cytokine networks. *Trends Microbiology* 1995, 3, 266-270.
- Hernandez JR, Martínez-Martínez L, Cantón R, Coque TM, Pascual P.** Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases in Spain. *Antimicrobiol Agents Chemotherapy* 2005, 49(5), 2122-2125.

Hoşgör M, Özkan F, Yapar N, Tünger A, Özinel MA. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde çift diskli sinerji testi ile üç boyutlu yöntemin karşılaştırılması. *Klinik Dergisi* 1998, 11(2), 59-60.

Houdouin V, Bonacorsi S, MahjoubMessai S, Mariani-Kurkdjian P, Bidet P, Sebag G, Loirat G, Bourrillon A, Bingen E. Phylogenetic groups and virulence factors of *Escherichia coli* strains causing pyelonephritis in children with and without urinary tract abnormalities. *Clinical Microbiology and Infection* 2007, 13, 7.

Hull R, Rudy D, Wieser I, Donovan W. Virulence factors of *Escherichia coli* isolates from patients with symptomatic and asymptomatic bacteriuria and neuropathic bladders due to spinal cord and brain injuries. *Journal Clinical Microbiology* 1998, 115-117.

İşler H. Klinik Ve Poliklinik İdrar Örneklerinden İzole Edilen *Escherichia Coli* Ve *Klebsiella* suşlarında Extended Spectrum Beta Laktamase Oranlarının Belirlenmesi, Bu Oranların Vitek-2 Ve Çift Disk Sinerji Yöntemleriyle Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2008, s 27-28.

Jacobsen L, Garneau P, Bruant G, Harel J, Olsen SS, Porsbo LJ, Hammerum AM, Frimodt-Moller N. Is *Escherichia coli* urinary tract infection a zoonosis? Proof of direct link with production animals and meat. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2012, 31, 1121-1129.

Johanson JR: Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection, *Clinical Microbiology Reviews* 1991, 4, 80-128.

Johanson I-M, Plos K, Marklund BI. *Pap*, *papG* and *prsG* DNA sequences in *Escherichia coli* from the fecal flora and the urinary tract. *Microbial Pathogenesis* 2003, 15, 121-129.

Johanson TJ, Logue CM, Johanson JR, Kuskowski MA, Sherwood JS, Barnes HJ, DebRoy C, Wannemuehler YM, Obata- Yasuoka M, Spanjaard L, Nolan LK. Associations between multidrug resistance, plasmid content, and virulence potential among extraintestinal pathogenic and commensal *Escherichia coli* from humans and poultry. *Foodborne Pathogen Diseases* 2012, 9, 37-46.

Kallenius G, Mollby R, Svenson SB, Helin I, Hultberg H, Cedergren B, Winberg J. Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections. *Lancet*. 1981, 2, 1369-1372.

Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic schema of diarrhoeagenic *E. coli*. *Nature Reviews Microbiology* 2004 (2), 123-140.

Karimian M, Rostamzad A, Shoaie P. Extended spectrum β -Lactamase-producing strains of *Escherichia coli* in hospitalized children in Isfahan, Iran. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infections* 2015, 2(3), 270-296.

Karlowsky JA, Thornsberry C, Jones ME, Sahm DF. Susceptibility of antimicrobial resistant urinary *Escherichia* isolates to fluoroquinolones and nitrofurantoin. *Clinical and Infections Disases* 2003, 36(2), 183-187.

Kaya O. 2000-2004 yılları arasında izole edilen uropatojen *Escherichia coli* suşlarında artan antibiyotik direnci. *SDU Tıp Fakültesi Dergisi* 2006, 13(4), 22-26.

Kepekçi P. İdrar Kültürlerinden izole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* Suşlarında Fosfomisin Trometamol Duyarlılığı, Uzmanlık Tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, 2005, s 13-14.

Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C , Saifon P. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum- β -Lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, Where the CTX-M family is endemic. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2008, 52, 2818-2824.

- Koçoğlu E, Karabay O, Koç İnce N, Özkardeş F, Yıldırım R.** Toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve bazı antibiyotiklere direnç sıklığının araştırılması. *ANKEM Dergisi* 2007, 21(1), 5-9.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC.** *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, USA, 1997.
- Kucheri R, Dasgupta P, Sacks SH, Khan MS, Sheerin NS.** Urinary tract infections: new insights into a common problem. *Postgrad Medical Journal* 2005, 81(952), 83-86.
- Kuzucu Ç, Yetkin F, Görgeç F, Ersoy S.** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarının ertapenem ve diğer karbapenemlere karşı duyarlılıklarının araştırılması. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya. *EKMUD Kongresi*, 18-19, Mayıs 2010, Ankara.
- Lane Mc, Lockett V, Monterosso G, Lamphier D, Weinert J, Hebel Jr, Johanson De, Mobley Hlt.** Role of motility in the colonization of uropathogenic *Escherichia coli* in the Urinary Tract. *Infections and Immunity* 2005, 73, 7644- 7656.
- Langermann S, Mollby R, Burlein JE ve ark.** Vaccination with FimH adhesin protects cynomolgus monkeys from colonization and infection by uropathogenic *Escherichia coli*. *The Journal of Infectious Diseases*. 2000, 181, 774-778.
- Livermore DM.** β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiological Reviews* 1995, 8, 557-584.
- Livermore DM, Williams JD.** Beta-lactams: Mode of action and mechanisms of bacterial resistance. In: Lorian V, eds. *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4. ed, Williams and Wilkins, Baltimore, 1996, s 502-578.
- Lomberg H, Eden CS.** Influence of P blood group phenotype on susceptibility to urinary tract infection. *FEMS Microbiology and Immunology*. 1989, 1, 363-370.
- Medeiros AA.** Evaluation and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clinical Infectious Diseases* 1997, 24 (Suppl 1), s 19-S45.
- Melli M.** Kinolonlar: *Türkiye Klinikleri Farmakoloji*. 2004, 2(2), 154-156.
- Mengeloğlu FZ, Demircan F, Oduncu M K.** İdrar kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* izolatlarının fosfomisine karşı in-vitro duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *ANKEM Dergisi* 2011, 25(2), 99-102.
- Mims CA, Playfair JHL, Roitt IM, Wakelin D, Williams R.** *Medical Microbiology*. Mosby- Year Book Europe Ltd, HongKong, 1993: 297-98.
- Moland ES, Bland JA, Hossain A.** Discovery of CTX-M-Like Extended-Spectrum β -Lactamases in *Escherichia coli* Isolates from Five U.S. States. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* 2003, 7, 2382-2383.
- Moreno E, Planells I, Prats G, Planes, AM Moreno G, Andreu A.** Comparative study of *Escherichia coli* virulence determinants in strains causing urinary tract bacteremia versus strains causing pyelonephritis and other sources of bacteremia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2005, 53(2), 93-99.
- Mulvey MA.** Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cellular Microbiology* 2002, 4(5), 257-271.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA.** *Medical Microbiology: Enterobacteriaceae*, 5. ed, Philadelphia, Elsevier Mosby, 2005, s 323-338.
- Mülazımoğlu L.** Yeni kinolonlar, 4. Antimikrobik Kemoterapi Gunleri Program ve Özet Kitabı. İstanbul. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti* 1999, s 30-34.
- Narayanawamy A, Mallika M.** Prevalence and susceptibility of extended spectrum betalactamases in urinary isolates of *Escherichia coli* in a tertiary care hospital, Chennai-South India. *Internet Journal of Medical* 2011, 6(1), 39-43.

- Naveen R, Mathai E.** Some virulence characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* in different patient groups. *Indian Journal of Medical Research* 2005, 122, 143-147.
- Nicole LE.** Epidemiology of urinary tract infection. *Infection Medical* 2001, 18, 153-162.
- Oteo J, Lázaro E, de Abajo FJ, Baquero F, Campos J.** Antimicrobial-resistant invasive *Escherichia coli*, Spain. *Emerging Infectious Diseases Journal*. 2005, 11(4), 546-553.
- Öksüz L, Gürler N.** *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların tiplendirilmesi ve plazmid profil analizi. *Mikrobiyoloji Bulteni* 2009, 43(2), 183-194.
- Özden M, Kalkan A, Demirdag K, Kilic SS, Ozdarendeli A.** Ciprofloxacin and cotrimoxazole resistance and extended spectrum beta-lactamase production in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections, *International of Journal Antimicrobiol Agents* 2003, 21(5), 492-493.
- Özsoy FM, Oncul O, Yıldırım A, Pahsa A.** Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar: Klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora* 2001, 6, 3-21.
- Özsüt H.** İdrar Yolları Enfeksiyonları. In: Topcu AW, Soyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı, cilt 1, Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2002, s, 1059-1069.
- Parlak M, Çıkman A, Bektaş A, Berktaş M.** *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotiklere direnç: beş yıllık izlem. *Sakarya Tıp Dergisi*, 2010, 2(1), 11-15.
- Paterson DL.** Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). *Clinical Microbiology and Infectious* 2000, 6, 460-463.
- Paterson, DL, Bonomo RA.** Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews* 2005, 18, 657-686.
- Paterson DL.** Resistance in gram negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *The American Journal of Medicine* 2006, 119, 20-28.
- Pitout JDD, Hossain A, Hanson N.** Phenotypic and Molecular detection of CTX-M- beta-lactamases produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 42, 5715–5721.
- Pourakbari B, Ferdosian F, Mahmoudi, Teymuri M, Sabouni F, Heydari H, Mohammad Ashtiani TH, Mamishi S.** Increase resistant rates and ESBL production between *E. coli* isolates causing urinary tract infection in young patients from Iran. *Brazilian Journal of Microbiology* June 2012, 43, 26.
- Rodriguez-Avial C, Hermández E, Picazo ZZ.** Increasing prevalence of fosfomycin resistance in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* urinary isolates (2005-2009-2011). *Revista Espanola Quimioterapia* 2013, 26(1), 43-46.
- Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johanson TJ, Fakhr MK, Nolan, LK.** Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Microbiology* 2005, 151, 2097-2110.
- Rodriguez-Avial C, Hermández E, Picazo ZZ.** Increasing prevalence of fosfomycin resistance in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* urinary isolates (2005-2009-2011). *Revista Espanola Quimioterapia* 2013, 26(1), 43-46.
- Ruhi MZ, Özenç H, Ataoğlu H, Aysev D.** Üriner sistem enfeksiyonu bulunan çocukların idrarlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının virulans faktörleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi* 2010, 30, 85-92.
- Sağlam D, Durmaz S, Kılıç H, Atalay MA, Erçal BD, Şarlı Ş, Perçin D.** Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik direnç paternleri. *ANKEM Dergisi* 2011, 25(4), 250-255.

- Sanders CC, Sanders WE Jr.** Beta-lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. *Clinical and Infectious Diseases* 1992, 15, 824-839.
- Sambrook J, Fritsch EF, Shuman HA.** Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd ed, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1989, s: 3520.
- Schembri MA, Blom J, Krogfelt KA, Klemm P.** Capsule and fimbriae interaction in *Klebsiella pneumoniae*. *Infectious and Immunology* 2005, 73(8), 4626-4633.
- Seid J, Asrat D.** Occurrence of extended spectrum beta-lactamase enzymes in clinical isolates of *Klebsiella* species from Harar region, eastern Ethiopia. *Acta Tropica* 2005, 95 (2), 143-148.
- Shayan S, Bokaeian M, Shahraki S, Saeidi S.** Prevalence of AmpC and ESBL producing *E. coli* and antibacterial effect of Allium sativum on clinical isolates collected from Zahedan Hospitals. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 2014, 16(4), 6-10.
- Sinha M, Srinivasa H, Macaden R.** Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian Journal of Medical Research* 2007, 126, 63-67.
- Sobel JD, Kaye D.** Urinary tract infections, “Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases, 5.baskı” kitabında, Churchill N Urdu ve N Gürlér Livingstone, Philadelphia, 2000, s 773.
- Stamm WE, Stapleton AE.** Approach to the patient with urinary tract infections. In: Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR. Infectious Diseases, 3rd ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2004, s 861-871.
- Steward CD, Rasheed JK, Susannah KU, Biddle JW, Raney PM, Anderson GJ, Williams PP, Brittain KL, Oliver A, McGowan JE, Tenover JR, Tenover FC.** Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards extended spectrum beta-lactamases detection methods. *Journal of Clinical Microbiology* 2001, 39 (8), 2864-2872.
- Sung MA, Fleming K, Chen HA.** The solution structure of Pap GII from uropathogenic *Escherichia coli* and its recognition of glycolipid receptors. *Embo Reports* 2001, 2, 621-627.
- Svanborg-Eden C, Freter R, Hagberg L.** Inhibition of experimental ascending urinary tract infection by an epithelial cell-surface receptor analogue. *Nature* 1982, 298, 560-562.
- Svenson M, Frendeus B, Butters T ve ark.** Glycolipid depletion in antimicrobial therapy. *Molecular Microbiology* 2003, 47, 453-461.
- Synder JA, Haugen BJ, Lockatell V.** Coordinate expression of fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli*. *Infectious and Immunity* 2005, 1, 7588-7596.
- Tansarli GS, Athanasiou S, Falagas ME.** Evaluation of antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae causing urinary tract infections in Africa. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2013, 57(8), 3628-39.
- Taşdemir C.** Toplum Ve Hastane Kaynaklı İnfeksiyonlardan İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Fenotiplerinin Araştırılması. Uzmanlık tezi, İstanbul, 2009, s 58.
- Temiz A.** Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 2000.
- Thomson K, Cornish N, Hong S, Hemrick K, Herdt C, Molan E.** Comparison of phoenix and VITEK 2 extended-spectrum-β- lactamase detection tests for analysis of *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates with well-characterized β-Lactamases. *Journal of Clinical Microbiology* 2007, 45 (8), 2380-2384.
- Tiba MR, Yano T, Leite DS.** Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cystitis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical S. Paulo* 2008, 50(5), 255-260.

- Tivendale KA, Logue CM, Kariyawasam S, Jordan D, Hussein A, Li G, Weber G, Riesenber K, Schlaeffer F.** Changing trends in frequency and antimicrobial resistance of urinary pathogens in outpatient clinics and a hospital in Southern Israel, 1991-1995. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 1997,16, 834-8348.
- Todar K.** University of Wisconsin Department of Bacteriology kentodar@textbookofbacteriology.net) 08.12.2015.
- Toni A, Chapman, Xi-Yang W, Idris B, Karl A, James JC, Chin B, Steven D, Darren T, Mark W.** Comparison of virulence gene profiles of *Escherichia coli* strains isolated from healthy and diarrheic swine. *Applied and Environmental Microbiology* 2006, 72, 4782.
- Topçu WA.** Sulfonamidler, Trimetoprim, Trimetoprim-Sulfametoksazol. In: Topçu WA, Soyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt: 1-2.* Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2002, s 214-223.
- Töreci K.** *Escherichia* Türleri. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 2.*Ed. A.W.Topçu, G.Söyletir, M.Doganay. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2002, s 1564-1575.
- Tunçkanat F.** Üriner sistem infeksiyonu patogeneğinde bakteriyel virulans faktörleri. *Klimik Dergisi* 1993, 6 (1), 3-5.
- Turan Ç.** İdrar Örneklerinden İzole Edilen *E. coli* Suşlarında P Fimriae Varlığı İle GSBL Oluşturma Arasındaki İlişkinin Araştırılması Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Aydın, 2011, s 80-86.
- Turner PC, Mclennan AG, Bates AD, White MRH.** Moleküler Biyoloji Önemli Notlar. Nobel Yayın, Ankara, 2004, 613, 346.
- Uğur Ar, Türk Dağı H, Tuncer İ, Fındık D, Arslan U.** İdrar Kültürlerinden İzole Edilen *Esheria Coli* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılığı Ve Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Oranı, KONYA. *ANKEM Dergisi* 2013, 27(1), 13-18.
- Unat EK.** *Escherichia coli*. In: Unat EK. *Tıp Bakteriolojisi ve Virolojisi, cilt 1, 2.* Baskı Dergah Tıp Yayınları, İstanbul, 1986, s 546.
- Uyanık MH, Hancı H, Yazgı H.** Üriner sistem infeksiyonlarından soyutlanan toplum kökenli *Escherichia coli* suşlarına fosfomisin trometamolün ve bazı antibiyotiklerin in-vitro etkinliği *Ankem Dergisi* 2009, 23(4), 172-176.
- Wang JY, Tang P, En-Hui Cui EH, Wang LQ, Liu WH, Ren JJ, Wu N, Qiu YH, Liu HJ** Characterization of antimicrobial resistance and related resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from chickens in China during 2007-2012. *African Journal of Microbiology Research* 2013, 7(46), 5238-5247.
- Wayne, PA.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-second informational Supplement CLSI document (M100-S22), Clinical and Laboratory Standards Institute (Formerly NCCLS). 2012, s 13.
- Weill FX, Demartin M, Tande D, Espie E, Rakotoarivony I, Grimont PAD.** SHV-12-like extended-spectrum-beta lactamase-producing strains of *Salmonella enterica* serotypes Babelsberg and Enteritidis isolated in France among infants adopted from Mali. *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 42, 2432-2437.
- Wiegand I, Geiss HK, Mack D, Stürenburg E, Seifert H.** Detection of extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae by use of semiautomated microbiology systems and manual detection procedures. *Journal of Clinical Microbiology* 2007, 45(4): 1167-1174.
- Wullt B, Bergsten G, Connell H.** P-fimbriae trigger mucosal responses to *Escherichia coli* in the human urinary tract. *Cell Microbiology* 2001, 3, 255-264.

- Wult B.** The role p-fimbriae for *Escherichia coli* establishment and mukozal inflammation in the human urinary tract. *International Journal of Antimicrob Agents* 2003, 21 (6), 605-621.
- Verger D, Miller E, Remaut H, Waksman G, Hultgren S.** Molecular mechanism of P pilus termination in uropathogenic *Escherichia coli*. *EMBO Reports* 2006, 7, 1228–1232.
- Yagi T, Kruokawa H, Shibata N, Shibayama K, Arakawa Y.** A preliminary survey of extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. *FEMS Microbiology Letters* 2000, 184(1), 53-56.
- Yapar SM.** Hastane Kökenli *Escherichia coli* İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar. Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi, Edirne, 2007, s 28-30.
- Yetkin G, Kuzucu Ç, Çalışkan A, Ay S.** Kan kültürlerinde üreyen *Escherichia coli*’lerin antibiyotik duyarlılıkları, GSBL oranları ve hastane birimlerine göre dağılımı. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2006, 13, 147-150.
- Yun KW, Kim HY, Park HK, Kim W, Lim S.** Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children. *Journal of Microbiology and Immunology* 2013, 47, 455-461.
- Zhao L, Chen X, Zhu X, Yang W, Dong L, Xu X, Gao S, Liu X.** Prevalence of virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* in Jiangsu Province (China). *Urology* 2009a, 74, 702–707.
- Zhao L, Gao S, Huan H, Xu X, Zhu X, Yang W, Gao Q, Liu X.** Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge model. *Microbiology* 2009b, 155, 1634-1644.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : İNEGÖL PAYKOÇ, Emel
Uyruk : T.C
Doğum yeri ve tarihi : Söke-1978
Telefon : 05326525449
E-mail : einegol@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniye Tarihi
Doktora	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD	Devam
Y. Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD	2010
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik B ölümü	2004

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
1997-2001	Akdeniz Üniversitesi Hastanesi	Hemşire
2001-	Adnan Menderes Üniversitesi	Hemşire

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

İnegöl E. Türkyılmaz S. Determination of SCCmec types in methicilline resistant staphylococci isolated from cows and farm workers. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 59: 89-93.

2. PROJELER

Türkyılmaz S, **İnegöl E.** Sığırlardan ve sektör çalışanlarından izole edilen metisilin dirençli stafilocoklarda SCCmec tiplerinin belirlenmesi. ADÜ, BAP VTF-10026, 2010.
Türkyılmaz S, **İnegöl E.** İdrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında P fimbria varlığı ve antibakteriyellere karşı duyarlılıklarının incelenmesi. ADÜ, BAP VTF-15002, Devam Ediyor.

3. BİLDİRİLER

A) Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

İnegöl E. Türkyılmaz, S. Presence of *mecA* gene and detection of SCCmec types in staphylococci isolated from cows and farm workers". IX. *Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi* (Uluslararası Katılımlı), 05–07 Ekim, 132–133, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, 2010.

İnegöl E. Türkyılmaz S. Determination of gelatinase activity of *Enterococcus faecalis* strains isolated from mastitic cows. X. *Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi* (Uluslararası Katılımlı), 24–27 Eylül, 160-161, Aydın, 2012.