



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ANKARA' DAKİ ÇİFTLİKLERDEN İZOLE
EDİLEN *ESCHERICHIA COLI*' LERDE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ VE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU
BETA LAKTAMAZ VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

Didem KARADEMİR

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Banu KAŞKATEPE**

**ANKARA
2024**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANKARA' DAKİ ÇİFTLİKLERDEN İZOLE
EDİLEN *ESCHERICHIA COLI*' LERDE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ VE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU
BETA LAKTAMAZ VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Didem KARADEMİR

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Banu KAŞKATEPE

ANKARA
2024

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Ankara'daki Çiftliklerden İzole Edilen *Escherichia coli*'lerde Antibiyotik Duyarlılığı ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Varlığının Belirlenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanın ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Didem KARADEMİR

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Didem KARADEMİR tarafından hazırlanan “Ankara’ daki Çiftliklerden İzole Edilen *Escherichia coli*’lerde Antibiyotik Duyarlılıklarının ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Varlığının Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25.01.2024

İmza
Prof. Dr. Nurten ALTANLAR
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Prof. Dr. Nilgün ÜNAL
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Üye

İmza
Doç. Dr. Banu KAŞKATEPE
Ankara Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza
Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Ankara'daki Çiftliklerden İzole Edilen *Escherichia coli* ' lerde Antibiyotik Duyarlılıklarının ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Varlığının Belirlenmesi

Antimikrobiyal direnç evrensel bir halk sağlığı sorunudur. Antibiyotiğe dirençli bakteriler, insanda, hayvanda ve çevrede bulunabilmektedir. Çevre antimikrobiyal direnç genlerinin bulunduğu sınırsız bir kaynak olmasından dolayı direnç genlerinin yayılımında önemli bir rol oynamaktadır. *Escherichia coli* (*E. coli*) direnç genlerini bulunduğu çevreden alabilir ve yayabilir. Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz üreten (GSBL) *E. coli* birçok beta laktam antibiyotigini hidroliz edebilmesinden dolayı küresel bir endişe kaynağıdır. Bu çalışmada Ankara ilinde hayvancılık faaliyetlerinin yoğun olarak gerçekleştiği üç ilçede bulunan çiftliklerden toplanan gaita ve toprak örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının fenotipik ve genotipik yöntemlerle antibiyotik duyarlılıklarının ve çift disk sinerji testi ile GSBL varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam 120 *E. coli* izole edilmiş olup, Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) önerileri doğrultusunda antibiyotik dirençleri belirlenmiştir. *E. coli* izolatlarının direnç oranları; ampisilin %12,5, trimethoprim/sulfometaksazol %6,6, sefazolin %0,83, siproflaksasin %2,5, seftazidim %0,83, sefotaksim %1,6, seftriakson %1,6 olarak bulunmuştur. Sefozolin %99,1 ve trimethoprim/sulfometaksazol %0,83 orta duyarlılık olarak belirlenmiştir. Sadece bir *E. coli* izolatında fenotipik yöntemlerle GSBL pozitiflik bulunmuştur ve bu izolata tüm genom analizi yapılmıştır. Tüm genom analizi sonucunda plazmidlerde GSBL ile ilgili *CTX-M-14* ve *TEM-1* genleri bulunmuştur. Bu çalışma Ankara' da bulunan çiftliklerdeki toprak örneklerinden izole edilen *E. coli*'nin antibiyotik duyarlılığının ve GSBL varlığının belirlenmesi konusunda yapılmış ilk çalışmadır. Çevresel örneklerde antibiyotik dirençlerinin ve GSBL pozitifliğin belirlenmesi, anlaşılabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. İnsan sağlığı ve hayvan sağlığı yaşadıkları ekosistemin sağlığına bağlıdır. Tek Sağlık, insanların, hayvanların ve ekosistemin sağlığının sürdürülebilmesi ve dengelenmesini amaçlayan birleştirici bir yaklaşımdır. Bu sebeple Tek Sağlık yaklaşımı vurgulanmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Antibiyotik Direnci, *Escherichia coli* , Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz, Tek Sağlık.

SUMMARY

Determination of Antibiotic Susceptibility and The Presence of Extended Spectrum Beta Lactamase in *Escherichia coli* Isolated from Farms in Ankara.

Antimicrobial resistance is a universal public health problem. Antibiotic-resistant bacteria can be found in humans, animals and the environment. The environment plays an important role in the spread of resistance genes as it is an unlimited source of antimicrobial resistance genes. *Escherichia coli* (*E. coli*) can acquire and spread resistance genes from its environment. Extended Spectrum Beta Lactamase-producing (ESBL) *E. coli* is a global concern as it can hydrolyze many beta lactam antibiotics. In this study, it was aimed to determine the antibiotic susceptibility of *E. coli* isolates isolated from stool and soil samples collected from farms in three districts where livestock farming activities are intensively carried out in Ankara province by phenotypic and genotypic methods and the presence of ESBL by double disk synergy test. A total of 120 *E. coli* were isolated and their antibiotic resistances were determined in accordance with the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) recommendations. The resistance rates of *E. coli* isolates were as follows: ampicillin 12.5%, trimethoprim/sulfometaxazole 6.6%, cefazolin 0.83%, ciprofloxacin 2.5%, ceftazidime 0.83%, cefotaxime 1.6%, ceftriaxone 1.6%. Cefozolin 99.1% and trimethoprim/sulfometaxazole 0.83% were determined as intermediate susceptibility. Only one *E. coli* strain was found to be ESBL positive by phenotypic methods and whole genome analysis was performed on this strain. As a result of whole genome analysis, ESBL-related *CTX-M-14* and *TEM-1* genes were found in plasmids. This is the first study on the determination of antibiotic susceptibility and ESBL presence of *E. coli* isolated from soil samples of farms in Ankara. More studies are needed to determine and understand antibiotic resistance and ESBL positivity in environmental samples. Human and animal health depends on the health of the ecosystems in which they live. One Health is a unifying approach that aims to sustain and balance the health of humans, animals and the ecosystem. Therefore, the One Health approach should be emphasized.

Keywords: Antibiotic Resistance, *Escherichia coli*, Extended Spectrum Beta Lactamase, One Health

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Escherichia coli</i> ' nin Genel Özellikleri	3
1.1.1. <i>Escherichia coli</i> ' nin Antijen Yapıları	5
1.1.2. <i>Escherichia coli</i> ' nin Virülans ve Patojenite Faktörleri	6
1.1.3. <i>Escherichia coli</i> Epidemiyolojisi	7
1.1.3.1. İntestinal Patojenik <i>Escherichia coli</i> Patotipleri	8
1.1.4.1.1. Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i> (EPEC)	8
1.1.4.1.2. Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i> (ETEC)	9
1.1.4.1.3. Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i> (EHEC)	9
1.1.4.1.4. Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i> (EAEC)	10
1.1.4.1.5. Enteroinvazif <i>Escherichia coli</i> (EIEC)	11
1.1.4.1.6. Diffuz Adherent <i>Escherichia coli</i> (DAEC)	12
1.1.4.2. Ekstraintestinal <i>Escherichia coli</i> (EXPEC) Patotipleri	12
1.1.4.2.1. Üropatojenik <i>Escherichia coli</i> (UPEC)	12
1.1.4.2.1.2. Septisemik <i>Escherichia coli</i> (SEPEC)	13
1.1.4.2.3. Avian Patojenik <i>Escherichia coli</i> (APEC)	13
1.1.4. <i>Escherichia coli</i> ' nin Direnç Mekanizmaları	15
1.2. Beta Laktamlar	17
1.2.1. Beta Laktamazlar	18
1.2.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL)	19
1.2.2.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Türleri	19
1.2.3. GSBL Tespit Yöntemleri	20
1.2.3.1. GSBL Tarama Testi	21
1.2.3.2. GSBL Doğrulama Testleri	22
1.2.3.2.1. Fenotipik Doğrulama Yöntemleri	22
1.2.3.3. Genotipik Doğrulama Yöntemleri	23
2. GEREÇ VE YÖNTEM	24
2.1. Gereç	24
2.1.1. <i>Escherichia coli</i> İzolatları	24
2.1.2. Kullanılan Besiyerleri	24
2.1.3. Kullanılan Boya, Çözelti ve Ayıraçlar	28
2.1.3.1. Boyalar	28
2.1.3.2. Çözeltiler ve Ayıraçlar	28
2.1.4. Kullanılan Antibiyotikler Diskleri	29
2.2. Yöntem	30
2.2.1. <i>Escherichia coli</i> ' nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu	30
2.2.1.1. Mac Conkey Agara, EMB Agara ve <i>E. coli</i> Agara Ekim	30
2.2.1.2. Gram Boyama	31
2.2.2. Biyokimyasal Testler	32
2.2.2.1. İndol Deneyi	32
2.2.2.2. Metil Red Deneyi	33
2.2.2.3. Voges Proskauer Deneyi	33

2.2.2.4. Sitrat Deneyi	32
2.2.2.5. Triple Sugar Iron Agar Ekimi (Üç Şekerli Demirli Besiyeri)	33
2.2.3. Testlerin Değerlendirilmesi	34
2.2.4. MALDI-TOF MS Yöntemi	34
2.2.5. <i>Escherichia coli</i> İzolatlarında İn Vitro Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması	35
2.2.6. GSBL Varlığının Belirlenmesi	36
2.2.6.1. Çift Disk Sinerji Testi	36
2.2.6.2. Kombine Disk Yöntemi	36
2.2.7. Tüm Genom Analizi	36
3. BULGULAR	38
3.1. <i>Escherichia coli</i> İzolatlarının Tanımlanması	38
3.2. <i>Escherichia coli</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları	44
3.3. GSBL Sonuçları	53
3.4. Tüm Genom Sekanslama Analiz Sonucu	54
4. TARTIŞMA	66
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	85

ÖNSÖZ

Antibiyotik direnci günümüzde en büyük sağlık problemlerinden biri haline gelmiştir. Antibiyotik direncinin artmasının en büyük nedenlerinden biri de antibiyotiklerin yanlış ve gereksiz kullanımındır. Antibiyotik dirençli mikroorganizmalar insanların yanı sıra hayvanlarda ve çevrede de bulunabilmektedir. Antibiyotik direncini önleyebilmek için direnç oranlarının ve yayılımının bilinmesi gerekmektedir. Bu sebeple Tek Sağlık yaklaşımını benimsemek büyük bir önem teşkil etmektedir.

Klinik izolatların antibiyotik duyarlılıkları ile ilgili literatürde oldukça fazla çalışma olmasına rağmen, çevresel izolatlarla ilgili çalışmalar yetersizdir. Ayrıca *Escherichia coli*'lerin sahip olduğu Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz enzimleri tedavilerde zorluklara yol açmaktadır. Bu sebeple GSBL pozitif *E. coli*'lerin yayılımının bilinmesi büyük bir öneme sahiptir.

Yüksek Lisans eğitimimin her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteğini her zaman hissettiğim ve bana bu yolda çok büyük katkılar sağlayan danışman hocam Doç. Dr. Banu KAŞKATEPE'ye, çalışmam boyunca özellikle laboratuvar çalışmalarımnda her zaman yol gösteren ve yardımcı olan Araş. Gör. Hilal Başak EROL'a,

T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı kimyager Dr. Yasemin NUMANOĞLU'na ve Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı biyolog Dr. Süleyman YALÇIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca desteklerini her zaman hissettiğim, ihtiyaç duyduğum zamanlarda yardımlarıyla yanımda olan sevgili annem, babam ve ablama sonsuz teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIEC	Adherent Invasive <i>Escherichia coli</i>
AK	Amikasin
AM	Ampisilin
AMR	Antimikrobiyal Direnç
APEC	Avian Patojenik <i>Escherichia coli</i>
ATP	Adenozin Trifofat
CAESAR	Orta Asya ve Doğu Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı
CAZ	Setazidim
CDC	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
CIP	Siprofloksasin
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CTR	Seftriakson
CTX	Sefotaksim
CZ	Sefazolin
ÇDST	Çift Disk Sinerji Testi
DAEC	Diffuz Adheviz <i>Escherichia coli</i>
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EAEC	Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>
EARS-NET	Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı
EHEC	Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>
EMB	Eosin Metilen Blue
EPEC	Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
EUCAST	Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi
ExPEC	Ekstraintestinal <i>Escherichia coli</i>
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GEN	Gentamisin
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HÜS	Hemolitik Üremik Sendrom
IMVIC	İndol, Metil Red, Voges-Proskauer, Sitrat Testi

IPEC	İntestinal Patojenik <i>Escherichia coli</i>
IPM	İmipenem
KOH	Potasyum Hidroksit
L	Litre
LPS	Lipopolisakkarit
LT	Isiya duyarlı toksin
MCA	Mac Conkey Agar
MEM	Meropenem
mg	Miligram
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
MİK	Minimal İnhibisyon Konsatrasyonu
mm	Milimetre
MNEC	Menenjit ile ilişkili <i>Escherichia coli</i>
°C	Santigrat derece
PBP	Penisilin Bağlayıcı Protein
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik Asit
SEPEC	Septisemik Patojenik <i>Escherichia coli</i>
ST	Isiya dayanıklı toksin
STEC	Shiga Toksin Üreten <i>Escherichia coli</i>
Stx	Shiga toksin
STX	Trimethoprim/sulfometaksazol
TSB	Tryptic Soy Broth
TSI	Triple Sugar Iron
UPEC	Üropatojenik <i>Escherichia coli</i>
VT	Verotoksin
VTEC	Verotoksin Üreten <i>Escherichia coli</i>

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Beta laktam antibiyotik sınıflarının yapıları	17
Şekil 2.1. <i>E. coli</i> 'nin EMB agardaki görüntüsü	29
Şekil 2.2. <i>E. coli</i> 'nin <i>E. coli</i> agardaki görüntüsü	29
Şekil 2.3. <i>E. coli</i> 'nin Gram boyama sonrası mikroskop görüntüsü	30
Şekil 2.4. İndol pozitif ve negatif <i>E. coli</i> izolatu	31
Şekil 2.5. Metil red negatif ve pozitif	31
Şekil 2.6. Metil red pozitif	31
Şekil 2.7. Voges proskauer negatif	32
Şekil 2.8. Voges proskauer pozitif	32
Şekil 2.9. Sitrat negatif	33
Şekil 2.10. Sitrat pozitif	33
Şekil 2.11. TSI agarda üç şekerin fermente görüntüsü	34
Şekil 2.12. TSI agarda gaz oluşumu görüntüsü	34
Şekil 3.1. MHA besiyerinde disk difüzyon yöntemi	45
Şekil 3.2. GSBL pozitif izolat (H2)	53
Şekil 3.3. GSBL pozitif kontrol	53
Şekil 3.4. Kombine disk yöntemi GSBL negatif	53
Şekil 3.5. H2 izolatının, <i>Escherichia coli str. K-12 (NCBI GenBank ID: NC_000913.3)</i> referans genomuna hizalanması sonucu genomun kapsam görüntüsü	54
Şekil 3.6. H2 örneğinin, <i>Escherichia coli str. K-12 (NCBI GenBank ID: NC_000913.3)</i> referans genomuna hizalanması sonucunda elde edilen konsensus genomun dairesel gösterimi	59

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. <i>E. coli</i> 'nin biyokimyasal test paternleri	5
Çizelge 1.2. <i>E. coli</i> 'nin patotipleri	14
Çizelge 1.3. <i>Enterobacteriaceae</i> GSBL tarama yöntemleri	21
Çizelge 2.1. Mac Conkey agar besiyeri kimyasal içeriği	23
Çizelge 2.2. Eozin Methylene Blue (EMB) agar besiyeri kimyasal içeriği	24
Çizelge 2.3. <i>E. coli</i> agar besiyeri kimyasal içeriği	24
Çizelge 2.4. Mueller-Hinton agar besiyeri kimyasal içeriği	25
Çizelge 2.5. Tryptic Soy Broth besiyeri kimyasal içeriği	25
Çizelge 2.6. İndol besiyeri kimyasal içeriği	26
Çizelge 2.7. MR-VP besiyeri kimyasal içeriği	26
Çizelge 2.8. Simmons Sitrat agar besiyeri kimyasal içeriği	26
Çizelge 2.9. Triple Sugar Iron agar besiyeri kimyasal içeriği	27
Çizelge 3.1. İlçelere göre toplanan örnek sayısı ve izole edilen <i>E. coli</i> sayısı	38
Çizelge 3.2. İlçelere göre gaita örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> sayısı	39
Çizelge 3.3. MALDI-TOF MS sonuçları	39
Çizelge 3.4. <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	44
Çizelge 3.5. Toplam direnç oranları	45
Çizelge 3.6. <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları	46
Çizelge 3.7. H2 izolatının virülans faktörleri	54
Çizelge 3.8. H2 örneğinde bulunan antibiyotik direnç genleri	59
Çizelge 3.9. H2 örneğinde bulunan plazmidlere ait antimikrobiyal direnç genleri	63

1. GİRİŞ

Antimikrobiyal direnç (AMR), bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitler dahil olmak üzere birçok mikroorganizmanın antimikrobiyal ajanlar varlığında gelişebilme ve üreme yeteneği kazanmalarınıdır. AMR'ler ciddi hastalıklarda tedavi başarısızlarına ve uzun süreli hastane yatışlarına, sağlık bakım maliyetlerinde artışa sebep olmaktadır. AMR'de özellikle bakterilerde gelişen antibiyotik direnci oldukça önemlidir (Dadgostar, 2019).

Antimikrobiyal direnç, 21. yüzyılın küresel bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Üçten fazla antibiyotik sınıfına dirençli bakteriler, çoklu ilaca dirençli bakteriler olarak adlandırılır ve bu bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlar, kemoterapi, organ nakli, kalça protezi gibi işlemlerden geçen hastalarda morbidite ve mortaliteyi etkileyen ana faktörlerdendir (Prestinaci vd., 2015).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) gibi etkili kuruluşlar, antimikrobiyal dirençli patojenleri insan sağlığına yönelik yaklaşan bir tehdit olarak sınıflandırmıştır ve bu direncin riskini analiz etmek, nedensel faktörleri belirlemek ve yönetmek için girişimlerde bulunmuştur (Abushaheen vd., 2020; Prestinaci vd., 2015). DSÖ, 2017 yılında üçüncü kuşak sefalosporinlere, karbapenemlere, klindamisine ve son çare bir antibiyotik olan vankomisine karşı direnç bildirmiştir (WHO, 2017). Avrupa ve Asya'daki epidemiyolojik sürveyans ağları olan Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (EARS-NET) ve Orta Asya ve Doğu Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (CAESAR) antibiyotiğe direncin son yıllarda daha yaygın hale geldiğini belirtmiştir (Christaki vd., 2020).

Antimikrobiyal direnç, doğal ya da sonradan edinilmiş direnç olabilmektedir. Doğal dirence sahip bakteri cinsi veya türü antibiyotik için hedef bir bölgesinin olmayışı gibi spesifik yapısal, işlevsel özelliklere sahiptir. Çoğunlukla doğal dirençte o bakteri türünün bütün suşları direnç gösterdikleri antibiyotik sınıflarının tüm üyelerine karşı dirençlidir. Edinilmiş direnç daha büyük bir endişe kaynağıdır. *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Staphylococcus aureus* gibi çoğunlukla kommensal olan mikroorganizmalar, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarla yakından ilişkilidirler ve direnç plazmitleri ve diğer mobil genetik elementler (transpozonlar ve integronlar) vasıtasıyla antibiyotik direnç genlerini kazanabilirler. Duyarlı bakterilerde oluşan mutasyon veya direnç genlerinin, transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyon ile

diğer bakterilere aktarılması sonucu direnç gelişebilir (Abushaheen vd., 2020; Tenover, 2006; Wright ve Sutherland, 2007).

Antibiyotik direncinin esas nedeni antibiyotiklerin kullanımındaki hatalardan kaynaklanmaktadır. Antibiyotiklerin yanlış kullanımı, doğru olmayan reçete yöntemleri, yanlış teşhis gibi insan faaliyetleri sonucu direnç gözlenebilir ve bu da sağlık hizmetlerinde antibiyotik kullanımını etkiler (Dadgostar, 2019).

Antibiyotik kullanımının büyük çoğunluğu beşerî tıp alanı dışında gerçekleşir. Gıda tüketim ürünü olarak yetiştirilen hayvanlarda ve su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalıkların tedavisi ve önlenmesinde ve daha çok büyüme teşviki amacıyla antibiyotikler kullanılmaktadır. 2014'te Amerika Birleşik Devletleri'nde, gıda üreten hayvanlarda kullanılan antibiyotikler toplam antibiyotik tüketiminin %80'ini oluşturmaktadır ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), bu antibiyotiklerin %74'ünün büyüme teşviki için yemlerde verildiğini tahmin etmektedir. Üstelik bu antibiyotiklerin büyük bir kısmı insan tıbbı açısından öneme sahiptir. 2006 yılında ise Avrupa'da antibiyotiklerin büyüme teşviki olarak kullanılması tamamen yasaklanmıştır (Holmes vd., 2016; Marston vd., 2016; Prestinaci vd., 2015).

Antimikrobiyal direnç, insanlar, hayvanlar ve çevre arasında farklı yollarla dağılabilmektedir. Çevredeki temel bulaşma yolları, endüstriyel ve belediye atık suları, kanalizasyon çamuru, hayvansal gübrelerin kullanımı ve su ürünleri yetiştirme sistemleri yer almaktadır (Ahmad vd., 2021).

Geliştirilen çoğu antibiyotik, özünde toprak mikroorganizmalarından üretildiği için toprak direnç genleri için bir rezervuar olarak kabul edilir ve tarımda kullanılan organik gübreler, fekal mikroorganizmalar ile kirlenmiş su, toprakta dirençli bakterilerin yayılmasına neden olur (Prestinaci vd., 2015).

İnsanlara direnç hayvanlar ile doğrudan temas ile geçebilmektedir. 2007 yılında kümes hayvanı yetiştiriciliğinde çalışan işçilerinde gentamisin dirençli *E. coli* taşıma riskinin, toplumda bulunan diğer üyelerine göre 32 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bunun dışında hayvansal ürünlerle temas veya hayvansal ürünlerin tüketimi ile dirençli bakterilere maruz kalılabilmektedir (Marshall ve Levy, 2011). Bir çalışmada *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella spp.* gübre, kompost, toprak ve su örneklerinde tespit edilmiştir (Ahmad vd., 2021).

Antimikrobiyal direncin global zorluğu, sürveyans çalışmalarıyla birlikte bilimsel verileri arttırmak için Tek Sağlık yaklaşımını gerektirmektedir. DSÖ 2014 yılında ortaya koyduğu raporda antibiyotik direncinin yerel, ulusal, bölgesel ve küresel boyutta tek sağlık yaklaşımı ile ele alınması gerektiğini vurgulamıştır (WHO, 2014).

Tek Sağlık, insanların, hayvanların ve çevrenin sağlığını dengelemeye ve optimize etmeye yönelik entegre, birleştirici bir yaklaşımdır. Tek sağlık, zoonotik patojenler, antibiyotik direnci ve patojen vektörleriyle ilgili olarak insanlar, hayvanlar ve fizikokimyasal çevre arasındaki etkileşimlere odaklanır (Van Bruggen vd., 2019).

Mikroorganizmalar toprak, bitki, hayvan ve insan sağlığını birbirine bağlar. Mikroorganizmalar toprakta ezici bir çoğunlukta bulunurlar ve tek sağlık yaklaşımının temeli olarak kabul edilebilirler (Banerjee ve van der Heijden, 2023).

Antimikrobiyal direnci aktarımı, çiftlikler, hastaneler, kanalizasyon arıtma tesisleri gibi farklı ekosistemler ile doğal çevre arasında gerçekleşir ve bir ekosistemin sağlığı diğer ekosistemin sağlığını da etkileyebileceği için Tek Sağlık sorunudur (Hernando-Amado vd., 2019).

E. coli, insanlar için önemli olmasının yanında hayvanlar içinde önemli bir patojendir. Antimikrobiyal direnç, *E. coli* enfeksiyonlarında büyük bir sorun haline gelmiştir ve gelişmiş ülkelerden gelen gezginlerden, kontamine yiyecek veya sudan çoklu ilaca dirençli *E. coli* bulaşı görülmektedir. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde genişlemiş spektrumlu beta- laktamaz (GSBL) üreten *E. coli* ciddi bir sorundur ve hayvanlardan elde edilen gıdalar, özellikle kümes hayvanları, insanlar için kaynak oluşturmaktadır (Collignon ve McEwen, 2019).

1.1. *Escherichia coli*' nin Genel Özellikleri

E. coli, 1884 yılında Alman mikrobiyolog ve çocuk doktoru olan Theodor Escherich tarafından keşfedilmiştir. Theodor Escherich, bebek bağırsaklarındaki mikroplar ve bunların sindirim ve hastalıklardaki rolleri üzerine yaptığı çalışma sırasında *Bacterium coli commune* adını verdiği yani günümüzde model organizma olan *E. coli*' yi buldu (Blount, 2015). İlk olarak 1895' te *Bacillus coli* olarak tanımlanan bu bakteri, 1919'da *Escherichia coli* olarak yeniden adlandırıldı. 1958'de terminoloji revize edildi ve böylece *Escherichia* bir cins ve *E. coli* ise ilk tür olarak belirlendi (Yu vd., 2021).

E. coli, *Gammaproteobacteria* sınıfı içinde *Enterobacterales* takımının, Gram negatif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, çubuk şeklinde, yaklaşık 1 µm uzunluğunda ve 0,35 µm genişliğinde bir bakteridir. Hareket etmek için kamçıya ve yüzeylere veya diğer hücrelere yapışmak için pililere sahip olabilir. Optimum koşullarda 20 dakika gibi kısa bir sürede çoğalabilir (Adeolu vd., 2016; Blount, 2015; Jang vd., 2017).

Memelilerde, diğer sıcak kanlı hayvanlarda ayrıca sürüngenlerde *E. coli*, doğal bağırsak mikroflorasının bir üyesidir. Bunun yanı sıra toprakta, suda, diğer çevrelerde ve yiyeceklerde bulunurlar (Hartl ve Dykhuizen, 1984). Doğal olarak *E. coli*'nin yaşam alanı çekum ve kolonun mukus tabakasıdır ve burada konakçısına zarar vermeden kommensal olarak yaşar. *E. coli*, doğumdan sonraki saatlerde bebek bağırsağına kolonize olur ve bağırsak mikroflorasının en bol bulunan fakültatif anaerob bakterisidir (A. Leimbach vd., 2013).

İlk başlarda tüm *E. coli* suşlarının patojenik olmayan kommensal organizmalar olduğu düşünülüyordu ancak 1940'larda *E. coli* izolatlarının şiddetli infantil ishal salgınlarıyla bağlantılı olduğu anlaşıldı (Chaudhuri ve Henderson, 2012). Çeşitli suşları hem insanlarda hem de hayvanlarda patojen olmalarını sağlayan virülans faktörleri edinmiştir. Patojenik suşlar, ishalleri hastalıklar içeren bağırsak enfeksiyonlarının yanı sıra idrar yolu enfeksiyonları, sepsis ve menenjit gibi hastalıklara neden olan bağırsak dışı enfeksiyonlardan da sorumludur (Yu vd., 2021). Genellikle kommensal *E. coli* suşları, bağışıklığı baskılanmış ve peritonit gibi normal gastrointestinal bariyerlerinin aşıldığı durumlar dışında nadiren hastalığa sebep olurlar (Kaper vd., 2004).

***Escherichia coli*'nin Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri**

E. coli fakültatif anaerobik bir canlı olup genel besiyerinde kolay bir şekilde ürer. *E. coli* 5- 46°C'de sıcaklıkta ürer ancak optimal üreme sıcaklığı 37°C iken pH değeri ise 7.0 ila 7.2'dir. *E. coli* bakterisinin besiyerinde oluşturdukları S tipi kolonilerin görünüşü hafif yuvarlak, düzgün, bombeli ve 1-2 mm çapındadır, kapsüle sahip olanların kolonileri mukoid yapıdadır ve boyutları çapları daha büyüktür. *E. coli* buyyonda kısa sürede ürer ve hafif bulanıklık oluştururlar (Bilgehan, 2002; Sesli, 1985).

E. coli karbonhidratlardan gaz oluşturur. Glikoz, maltoz, mannitol, ksiloz, ramnoz, arabinoz, sorbitol, trehaloz ve gliserolü asit ve gaz oluşturarak parçalar. Nişastadan ise gaz oluşturamazlar. Sakkaroz, dulsit, rafinoz ve salisine etkileri değişkendir. Triptofandan indol

oluştururlar.. Sitratlı besiyerinde üremezler ve üreyi parçalayamazlar. Triple Sugar Iron (TSI) agarda H₂S oluşturmazlar Metil-red pozitifdir ve Voges-Proskauer negatifdir (Bilgehan, 2002; Sesli, 1985). *E. coli*'nin bütün biyokimyasal test paternleri Çizelge 1.1.'de verilmiştir.

E. coli'lerin izole etmek ve identifikasyonunu yapmak için çeşitli selektif besiyerleri kullanılır. Laktozu parçalamayan bazı kökenleri dışında MacConkey agarda yuvarlak kırmızı koloniler oluşturur. Eosin Methylene Blue (EMB) agarda mor-siyahımsı renkte görünen ve metalik parlaklık veren koloniler oluşturur. Salmonella Shigella Agar (SS) agarda üremeleri baskılanır. Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agarda sarı, Hektoen agarda sarı-turuncu renkte koloni oluştururlar. Hemolitik *E. coli*'ler kanlı agarda koloni etrafında hemoliz oluştururlar (Bilgehan, 2002; Sesli, 1985).

Çizelge 1.1. *E. coli*'nin biyokimyasal test paternleri (Tosun, 2021)

Arjinin	-	Hareket	±
Sitrat	-	Ornitin	±
DNAaz	-	Fenil alanin	-
Gaz	+	Sükroz	±
Glukoz	+	Üreaz	-
H₂S	-	VP	-
İndol	+	MR	+
Lizin	+	TSI yüzey/dip	Asit (sarı/ asit-gaz)

±: değişken
MR: metil-red
+: %90 pozitif
TSI: triple sugar iron agar
-:%90 negatif
Vp:Voges-proskauer

1.1.1. *Escherichia coli*'nin Antijen Yapıları

1940'larda Kauffmann tarafından geliştirilen serotiplendirme, *E. coli*'nin alt türlerinin sınıflandırılmasının yüzey antijenlerinin çeşitliliğine göre yapılmasına dayanmaktadır. Bu serotiplendirmede *E. coli*'nin somatik (O) antijeni, kapsüller (K) antijeni ve flagellar (H) antijeni dikkate alınmaktadır (Mainil, 2013; Omerovic vd., 2017). Bir diğer antijen, fimbrial (F) antijenleridir ve tek tek suşları tanımlamak için kullanılmaktadır (Omerovic vd., 2017) 1940'larda Kauffmann tarafından geliştirilen serotiplendirme, *E. coli*'nin alt türlerinin sınıflandırılmasının yüzey antijenlerinin çeşitliliğine göre yapılmasına dayanır. Bu serotiplendirmede *E. coli*'nin somatik (O) antijeni, kapsüller (K) antijeni ve flagellar (H) antijeni dikkate alınır (Mainil, 2013; Omerovic vd., 2017). Bir diğer antijen fimbrial (F) antijenleridir ve tek tek suşları tanımlamak için kullanılmaktadır (Omerovic vd., 2017).

Hücre duvarının dış zarı, ayrılmaz bileşenler olarak lipit bağlantılı, termostabil polisakkaritler içerir. Hücre duvarındaki lipopolisakkaritler (LPS) O antijenleridir. O antijenleri ısıya dayanıklıdır. Birçok *E. coli*, özellikle istilacı olanlar, polisakkaritlerden oluşan bir kapsül üretir. Kapsül antijen niteliğindedir ve K antijeni olarak adlandırılır. K antijeni depopolisakkarit (N-asetil nauramik asit) yapısındadır. H antijenleri hareketli kökenlerde bulunan protein yapısında, termolabil, 100°C'de ısıtmak ve alkol ile bozulan antijenlerdir ve flagellanın bir parçasıdır (Bilgehan, 2002; Jann ve Jann, 1987; Omerovic vd., 2017). *E. coli*'nin günümüze kadar 171 somatik (O), 55 flagellar (H) ve 80 kapsüller (K) antijen tanımlanmıştır ve 160'tan fazla serolojik *E. coli* türü vardır (Sarowska vd., 2019).

1.1.2. *Escherichia coli*'nin Virülans ve Patojenite Faktörleri

İnsan, hayvan veya bitkilerde hastalık etmeni olan mikroorganizmalar patojen olarak adlandırılır. Patojenite, konak canlıda hastalık oluşturabilme yeteneğidir. Patojeniteleri virülans faktörleri ile ortaya çıkar ve virülans, patojenite derecesi olarak ifade edilir. Virülans hastalık oluşturma özelliğindeki genetik, biyokimyasal ve yapısal faktörlerdir (Telli ve Doğruer, 2013).

Kapsül, hücrenin dış yüzeyini çevreleyen yoğun polimer kılıftır. Kapsül, kısmen konak organizmanın savunma mekanizmalarından korunmaya yarar (Madıgan vd., 2017). Kapsül bakteriyi konakçısı tarafından fagositik yutulmaya ve kompleman aracılı bakterisidal etkiye karşı korur. Pylonefritojenik *E. coli* arasında en sık görülen K antijenleri K1, K2, K5, K12, K13 ve K15'dir (Tunçkanat, 1993). K1 ve K5 antijenleri, doku bileşenlerine moleküler olarak benzerlik göstererek enfekte olmuş konağın uygun humoral immün tepkisinin oluşmasını önler (Bien vd., 2012). LPS, sadece Gram negatif bakterilerin dış zarında bulunurken görevleri ise çeşitli biyolojik işlevleri yerine getirmektir. LPS tipik olarak üç yapısal bölgeden oluşur: LPS'yi bakteri zarına bağlayan bir hidrofobik glikolipid olan lipid A, heptoz ve keto deoksioktulosonat (Kdo) gibi yaygın olarak şekerleri içeren iç oligosakkarit ve her biri çok çeşitli yaygın veya nadir şeker ve bunların türevlerinden çoklu tekrar eden oligosakkarit birimlerinden (O birimleri) oluşan bir polisakkarit olan O antijeni. O antijeni *E. coli* için önemli bir virülans faktörüdür. *E. coli* O antijenlerinde bulunan 49 farklı şeker vardır ve %97 şeker oluşumlarını heksoz (38) oluşturur (Liu vd., 2020). LPS tabakasının lipid A bölümü canlıda IgM ve IgG yanıtına sebep olur (Tunçkanat, 1993).

Fimbria ve piluslar tutunmada fonksiyonel olabilen bakteri hücre yüzeyindeki protein yapılarıdır. Tip-1 fimbrialar hücre yüzeyinde düzenli olarak dağılmıştır. Piluslar fimbriyalardan daha uzundur ve hücre yüzeyinde daha az bulunur. Piluslar ve fimbrialar konağın hücre yüzeyi glikoproteinlerine bağlanarak tutunma olayını başlatırlar. Eş zamanlı olarak flagellalar da konakçı hücreye tutunmayı artırır ve gelişmiş virülansa sebep olur. *E. coli*'nin enterotoksik olan suşları ince bağırsaktaki hücrelere özel bir şekilde bağlanarak CFA (kolonizasyon faktör antijenleri) olarak isimlendirilen fimbriyal proteinleri üretir (Madıgan vd., 2017).

Tip 1 fimbria, kobay eritrositlerini aglütine etme özelliğine sahiptir ve ortamda mannoz bulunması bu olayı inhibe eder. Bu sebeple mannoz duyarlı bir fimbriadır (Tunçkanat, 1993).

P fimbrialar, insan eritrositlerini aglütine etme özelliğine sahiptir ve Tip 1 fimbriaların aksine mannoz dirençli fimbriadır. P fimbria olarak denmesinin sebebi ise, özgül olarak eritrosit ve üroepitelyal P kan grubu antijenlerine bağlanıyor olmasıdır (Tunçkanat, 1993).

Bir çeşit ekzotoksin olan enterotoksinler, ince bağırsağı etkilerler ve genel olarak bağırsak lümenine büyük oranda sıvının salgılanmasına yol açarak kusma ve diyare gibi rahatsızlıklara neden olurlar (Madıgan vd., 2017).

1.1.3. *Escherichia coli* Epidemiyolojisi

E. coli'nin insanlarla ilişkisi her zaman mutualist bir ilişki olmayıp enfeksiyonlara da yol açabilmektedir. *E. coli*'nin enfeksiyonlara yol açmasının nedeni normalde zararsız ya da faydalı suşların, konakçının immün sisteminin zayıflaması ile bağırsak dışındaki vücut kısımlarına ulaşabilmesidir. Bunun yanı sıra, virülans faktörleri üreten ve sağlıklı bir konakçıda bile hastalığa sebep olan patojen suşları bulunmaktadır (Blount, 2015). Patojenik *E. coli*'nin sebep olduğu enfeksiyonlar, mukozal yüzeylerle gibi dar bir bölgede kalabileceği gibi bütün vücuda da yayılabilir. Patojenik *E. coli* enfeksiyonları genel olarak üç klinik sendroma yol açar; (i) idrar yolu enfeksiyonu, (ii) sepsis/menenjit ve (iii) enterik/diyare (Nataro ve Kaper, 1998).

Patojenik *E. coli* suşları, belirgin virülans özelliklerine ve konağın klinik semptomlarına bağlı olarak çok sayıda patotipe ayrılmaktadır. Ayrıca enfeksiyon bölgesine bağlı olarak intestinal patojenik *E. coli* (IPEC) ve ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) olarak ikiye ayrılabilir (Bekal vd., 2003; Andreas Leimbach vd., 2013). *E. coli*'nin patotipleri Çizelge

1.2.'de verilmiştir. Patojenik *E. coli* suşları, belirgin virülans özelliklerine ve konağın klinik semptomlarına bağlı olarak çok sayıda patotipe ayrılmaktadır. İlâveten enfeksiyon bölgesi dikkate alınarak, intestinal patojenik *E. coli* (IPEC) ve ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) olarak ikiye ayrılabilir (Bekal vd., 2003; Andreas Leimbach vd., 2013). *E. coli*'nin patotipleri Çizelge 1.2.'de verilmiştir.

1.1.3.1. Intestinal Patojenik *Escherichia coli* Patotipleri

En belirgin IPEC patotipleri, enteroagregatif *E. coli* (EAEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), entroinvaziv *E. coli* (EIEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), diffuz adherent *E. coli* (DAEC) ve adherent invasive *E. coli* (AIEC) dir (Andreas Leimbach vd., 2013).

1.1.4.1.1. Enteropatojenik *Escherichia coli* (EPEC)

EPEC, tanımlanan ilk *E. coli* patotipidir. Tüm hayvanlarda ve insanlarda ishale neden olabilmektedir. 1940'lar ve 1950'lerde yaşanan bebek ishallerinin nedenidir. EPEC bağlı büyük bebek ishal salgınları sanayileşmiş ülkelerde büyük ölçüde ortadan kalkmış olsa da hala gelişmekte olan ülkelerde ölümcül bebek ishallerinin nedeni olmaya devam etmektedir (Kaper vd., 2004).

EPEC enfeksiyonlarının ayırt edici özelliği, enfekte hastalardan alınan ince bağırsak biyopsi örneklerinde gözlenen attaching and effacing (A/E) histopatolojisidir. Birçok hastada mikrovillusların sayısında ve yüksekliğinde azalma, enterosit sınırlarında körelme, glikokaliks kaybı ve mukozal yüzeyi kapsayan mukus psödomembran varlığı gözlenmiştir. Klinik olarak ateş, halsizlik, kusma ve önemli miktarda sıvı içeren ancak kan içermeyen ishale karakterizedir (Deborah Chen ve Frankel, 2005).

EPEC'in esas özellikleri bağırsak mukozasındaki belirli tipteki hücelere yapışmasıdır. Membran mikrovilluslarında lezyon ve epitel hücrelerine tutunarak birtakım bozukluklara sebep olur. Adezyon süreci ve lezyon oluşumunda ana faktör ve virülans faktörü, plazmid tarafından kodlanan EPEC adezyon faktörü (EAF)'dür. Bir başka adezyon faktörü olan intimin ise adezyonun son aşamasında rol oynar. EPEC, LEE (locus of enterocyte offacement) olarak bilinen 35 kb'lık bir patojenite adasının varlığı ve Shiga toksin kodlayan genlerin olmamasına göre tanımlanması yapılır ve sınıflandırılır (Omerovic vd., 2017).

1.1.4.1.2. Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC)

Hem insanlarda hem de çiftlik hayvanlarında akut ishalin yaygın nedeni ETEC'dir (Allocati vd., 2013). Ek olarak ETEC, gelişmekte olan ülkelerde 5 yaş altındaki çocuklarda, uluslararası seyahat edenlerde, yenidoğan ve süttten kesilmiş olan hayvanlarda ishalin en yaygın bakteriyel nedenidir (Duan vd., 2019).

ETEC, konakçılar arasında fekal-oral bulaşma şeklinde yayılır ve adezinler, enterotoksinler gibi çeşitli virülans faktörleri patogenezinde önemli bir rol oynar. Ağız yoluyla alındıktan ve gastrointestinal sisteme ulaştıktan sonra, ince bağırsak epitelinin apikal zarında bulunan spesifik reseptörler ile fimbrial ve fimbrial olmayan adezinlerin etkileşimi yoluyla ince bağırsakta kolonize olur. Epitele bağlandıktan sonra, ETEC ısıya duyarlı (LT) ve/veya ısıya dayanıklı (ST) enterotoksinlerini serbest bırakır; bu enterotoksinler, elektrolit homeostazını bozarak bağırsak endositleri üzerinde hareket ederek sıvı kaybına ve sonunda ishale neden olur (Wang vd., 2019).

ETEC, ısıya duyarlı toksin (LT) ve ısıya dayanıklı toksin (ST) olmak üzere iki enterotoksinden birini veya her ikisini de salgılayabilir (Gambushe vd., 2022). LT'ler, yapı ve işlev olarak *Vibrio cholerae* tarafından salgılanan kolera enterotoksiniyle yakından ilişkili bir enterotoksin sınıfıdır (Kaper vd., 2004). Enterotoksin LT, LT-I ve LT-II serogruplarına ayrılır. ETEC tarafından üretilen ST enterotoksinler, STa ve STb olmak üzere iki tipte salgılanan peptitlerdir. Bu peptitler, plazmit üzerinde yer alan iki gen tarafından kodlanır (Wang vd., 2019).

1.1.4.1.3. Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC)

EHEC, insanlarda hemorajik kolit (kanlı ishale), kansız ishale ve hemolitik üremik sendrom (HÜS) etkenidir. EHEC suşları arasında en önemlisi O157:H7 serotipidir. Ana rezervuarı sığırların bağırsak sistemleridir (Kaper vd., 2004). Ancak koyun, domuz, keçi ve kedi, köpek gibi diğer evcil hayvanların gastrointestinal sistemlerinde de yaygın olarak bulunmaktadır. EHEC, hayvanların kesiminden sonra etin dışkı veya bağırsak içeriği ile kontaminasyonu yoluyla hayvan kaynağından insanların besin zincirine girebilir. Enfeksiyonun en yaygın kaynaklarından biri, kıymadan yapılmış hamburger köftesidir ve bir dizi O157:H7 enfeksiyonu salgını bu kaynağa bağlanmıştır. Enfeksiyonların diğer gıda kaynakları arasında çiğ ya da yeterince pastörize edilmemiş süt ürünleri, salam, kurutulmuş et

ürünleri ve yetiştirme veya işleme sırasında muhtemelen hayvan gübresi ile temas etmiş meyve ve sebze ürünleri yer alır (Paton ve Paton, 1998).

EHEC, STEC (Shiga toksin üreten *E. coli*) olarak adlandırılmasının yanı sıra VTEC (Verotoksin üreten *E. coli*) olarak da adlandırılmaktadır. *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*) serotip 1 tarafından üretilen bir sitotoksine benzerlikten türetilen Shiga toksini (Stx) ve Vero hücreleri için sitotoksine dayanan verotoksin (VT) isimleri birbirlerinin yerine kullanılır (Gyles, 2007).

Stx'ler, bakteriyel ekzotoksin ailesidir. *S. dysenteriae* serotip 1 ve STEC tarafından eksprese edilmektedir. Merkezi sinir sistemi (CNS) anormalliklerinin, HÜS gibi hastalıklardan sorumlu birincil virülans faktörleridir. Bugüne kadar iki ana yapısal Stx tipi tanımlanmıştır: Shiga toksin tip 1 (Stx1) ve Shiga toksin tip 2 (Stx2) (Kim vd., 2020). Stx1, *S. dysenteriae* tip 1'in Shiga toksinininki ile aynı olan, oldukça korunmuş bir yapıdır. Stx2 ile daha yüksek HÜS geliştirme riski arasından bir ilişki olduğuna dair kanıtlar vardır (Gyles, 2007).

1.1.4.1.4. Enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC)

EAEC, 1987 yılında Nataro vd. (1987) tarafından, kültürde *E. coli* suşlarının HEp-2 (human epitalyal tip 2) hücrelerine farklı yapışma modellerini inceleyen bir çalışmada tanımlanmıştır ve incelenen suşlar, ishali Şilili çocuklardan alınmıştır ve tipik “yığılmış tuğla” modeli gözlenmiştir (Jensen vd., 2014).

EAEC gezgin ishali, çocuklar arasında endemik pediatrik ishal ve HIV enfekte hastalar arasında kalıcı ishal dahil olmak üzere çeşitli klinik senaryolarda önemli bir patojen olarak ortaya çıkmaktadır (Nataro, 2005).

EAEC ilk olarak bağırsak mukozasına yapışır ve orada mukoid bir biyofilm oluşturur, daha sonra bağırsak mukozasında toksik etkilere yol açarak diyareye sebep olur (Weintraub, 2007). EAEC suşları, Hep-2 hücrelerine ve bağırsak mukozasına, adezinlerin Dr ailesi ile ilgili olan, agregatif yapışma fimbriaları (AAF) olarak bilinen fimbrial yapılar sayesinde yapışır (Kaper vd., 2004). Bağırsak EAEC ile kolonize edildiğinde, aşırı mukus salgılanması ve ardından biyofilm oluşumu tanımlanmıştır. EAEC'nin önemli patojenite özelliği biyofilm oluşturmasıdır ve genel olarak biyofilm oluşumuna kolonda rastlanır fakat ince bağırsakta da biyofilm oluşumuna dair bildiriler mevcuttur. Biyofilm, bakterilerin konakçının bağışıklık sisteminden kaçmasına izin verir ve ayrıca antibiyotikler dahil olmak üzere diğer

antibakteriyel faktörlerin ulaşmasını engelleyerek kalıcı enfeksiyonların oluşmasına katkı sağladığı için önemli bir faktördür (Jensen vd., 2014). Laboratuvar çalışmalarında ishalin potansiyel bir nedeni olarak gösterilebilecek ilk EAEC virülans faktörü, entroagregatif ısıya dayanıklı toksin EAST-1'dir. EAST-1 toksini, klorür sekresyonunun artışına yol açar ve sekretuar ishal ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, EPEC, ETEC ve EHEC suşlarında da tespit edildiği için EAST-1, EAEC suşları ile sınırlı değildir (Jensen vd., 2014; Okeke ve Nataro, 2001).

1.1.4.1.5. Enteroinvazif *Escherichia coli* (EIEC)

EIEC, suşunun ilk raporu 1947'ye dayanmaktadır ve biyokimyasal özellikleri ise ilk olarak 1967'de tanımlanmıştır. EIEC, özellikle düşük gelirli ülkelerde basilli dizanteri etiyolojik ajandır. EIEC'nin patogenezi, kromozomal ve plazmid kaynaklı genlerin eksprese edilmesi ile meydana gelir ve bakterilerin insan kolonik mukozasını istila etme özelliği ile karakterizedir. EIEC, kolonik epitel hücrelerine yerleşmesinin ardında hücre içinde çoğalır ve komşu hücrelere yayılarak bağırsak epitel bariyerlerinin inflamatuvar yıkımına yol açar. Sonucunda dışkıda kan, mukus ve lökositlerin bulunmasıyla ayırt edilen, çoğunlukla kendi kendini sınırlayan dizanteri sendromunu tetikler. EIEC'nin neden olduğu hastalık, *Shigella spp.*'nin sebep olduğu hastalığa benzerdir (Pasqua vd., 2017). EIEC, *Shigella spp.* ile biyokimyasal, genetik ve patojenik olarak yakından ilişkilidir (Kaper vd., 2004).

EIEC, temel olarak kontamine olmuş yiyeceklerin yenmesi ve suların tüketilmesi ile oral ve fekal yollarla alınan fakültatif hücre içi patojenlerdir. Çoğu EIEC suşu lizin dekarboksilaz negatif, laktozu fermente kabiliyetleri yoktur ve birkaç serogruba ait suşlar dışında genellikle hareketsizdirler (Govindarajan vd., 2020; Pasqua vd., 2017).

1.1.4.1.6. Diffuz Adherent *Escherichia coli* (DAEC)

DAEC suşları, kültürlenmiş epitelyal HEp-2'nin yanı sıra HeLa hücreleri üzerindeki yaygın yapışma (DA) modellerinden tanımlanmış ve heterojen bir grup oldukları görülmüştür. DAEC suşlarının birinci sınıfı, Afa/Dr adezinlerini bulunduran suşları kapsar ve bu suşlar idrar yolu enfeksiyonları ve çeşitli enterik enfeksiyonlarla ilişkilidir. DAEC suşlarının ikinci sınıfı, infatil diyarenin potansiyel bir nedeni olan diffüz tutunma (AIDA-I) ile ilgili adezini eksprese eden *E. coli* suşlarını içerir (Servin, 2005).

1.1.4.2. Ekstraintestinal *Escherichia coli* (EXPEC) Patotipleri

E. coli suşları, tipik olarak insanların ve diğer hayvanların bağırsak mikrobiyotasını işgal eder ancak bu rezervuarlar çıkarak bağırsak dışı enfeksiyonlara da neden olabilir (Manges vd., 2019). İPEC'in aksine, ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC), kommensal olarak yaşadıkları sağlıklı popülasyonun bir kısmının bağırsak mikroflorasının bir parçasıdır ve normalde bağırsağı asemptomatik olarak kolonize eder ancak bağırsak dışı nişlere eriştiklerinde, bu nişleri işgal edebilir ve hastalığa neden olurlar (Köhler ve Dobrindt, 2011). ExPEC, kolektif olarak önemli ölçüde morbiditeye, üretkenlik kaybına ve artan sağlık bakım maliyetlerine neden olan heterojen hastalık grubu olan idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE), toplum kökenli bakteriyemi ve sepsisin en yaygın nedenidir (Johnson ve Russo, 2002). ExPEC suşları ayrıca, yeni ve rahatsız edici antibiyotik direnci edinmesiyle ilişkili bir ayrıcalığa sahiptir (Manges vd., 2019). ExPEC, üropatojenik *E. coli* (UPEC), neonatal menenjitte ilişkili *E. coli* (MNEC) ve sepsise sebep olan *E. coli* (SEPEC) dahil olmak üzere hastalık ilişkisine göre gruplara ayrılmıştır (Dale ve Woodford, 2015).

En yaygın ExPEC patotipleri ise, üropatojenik *E. coli* (UPEC), menenjit ile ilişkili *E. coli* (MNEC), septisemik patojenik *E. coli* (SEPEC) bir de avian patojenik *E. coli* (APEC)'dir (Andreas Leimbach vd., 2013).

1.1.4.2.1. Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC)

UPEC, toplum kökenli İYE (%70-95) ve nazokomiyal İYE'lerin büyük bir kısmının (%50) başlıca nedenidir ve dünya çapında önemli tıbbi maliyetler ve morbiditeden sorumludur (Wiles vd., 2008). UPEC'in neden olduğu İYE, genellikle aynı bakteri türü tarafından ve antibiyotik tedavisine rağmen tekrarlayan enfeksiyona rol açabilir (Kau vd., 2005). UPEC idrar yoluna girer ve daha sonra genellikle mesaneyi kolonize etmeyi tercih eder ve sistite sebep olur fakat üreterler yoluyla böbreklere ilerleyerek piyelonefrite neden olabilir. UPEC'in konakçının dokularına bağlanma yeteneği, bu bakterilerin idrar yolundaki kolonizasyonunu kolaylaştırır, toplu idrar akışına direnmelerine izin verir ve ürotelyal hücrelerin UPEC istilasını destekler bunun için en önemli faktörlerden birisidir (Wiles vd., 2008).

1.1.4.2.1.2. Septisemik *Escherichia coli* (SEPEC)

Septisemik suşlar buldukları konaklarında septisemiye neden olurlar. Toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlardaki bakteriyemi vakalarının %40'ından fazlası

koliseptisemiden sorumludur ve bu enfeksiyondan kaynaklanan ölümlerin (%80'den fazla) ana nedenidir. Aynı zamanda immün sistemi baskılanmış hastalarda (HIV, kemoterapi, yaşlılık) ana ölüm sebebidir. İnsanlarda septisemi genellikle İYE ve solunum yolu enfeksiyonlarına ikincildir ve huzurevlerinde, hastanede yatan kişilerde, çocuklarda özellikle yeni doğanlardaki enfeksiyonlarda yaygındır. Ayrıca çitlik hayvanlarında ekonomik öneme sahip olan buzağı, kuzularda ve özellikle kanatlılarda koliseptisemi hastalığı oluştururlar (Mokady vd., 2005; Omerovic vd., 2017; Ron, 2010).

SEPEC suşları, mukozal kolonizasyona desteklik sağlayan adezinleri eksprese ettikleri, doğuştan sahip oldukları bağışık sayesinde bakterisidal aktivitesine karşı koydukları ve salgıladıkları sideroforlar sayesinde demir kısıtlı vücut bölgelerinde büyüyebildikleri için kan ve iç organları istila ederek sayılarını arttırmaları (Uriarte vd., 2022).

1.1.4.2.3. Avian Patojenik *Escherichia coli* (APEC)

APEC, tavuklar, hindiler, ördekler ve diğer birçok kümes hayvanı dahil olmak üzere kolibasilloz olarak bilinen enfeksiyonlara neden olur. Avian colibacillosisin perikardit, perihepatit, peritonit, hava kesesi iltihabı, omfalit, selülit en yaygın enfeksiyonlarıdır. Kolibasillozis, kümes hayvanlarında et ve yumurta üretiminde azalma ile sonuçlanan ekonomik kayıplara sebep olabilir. Bunun yanında mortalite (%20'ye kadar) ve morbiditenin de önde gelen nedenlerinden biridir ve aynı şekilde APEC genç tavuklarda yüksek mortalitelere (%53,5'e kadar) yol açar. APEC potansiyel virülans faktörleri, endüstriyel kümes hayvanı üretiminde büyük ekonomik kayıplara ve hayvan refahının tehlikeye girmesine neden olur. APEC'in virülans faktörleri adezinler (F1- ve P-fimbria), demir alım sistemleri, invazinler, hemolizinler (hemolizine ve sıcaklığa duyarlı hemagglütinin), serumun bakterisidal etkilerine direnç, toksinler ve sitotoksinlerdir. Bu faktörler, APEC'in yapışmasını, invazyonunu, konak immün yanıtlardan kaçmasını, kolonizasyonunu, çoğalmasını ve sistemik yayılmasını kolaylaştırarak enfeksiyon oluşumuna izin verir (Christensen vd., 2021; Ewers vd., 2003; Kathayat vd., 2021).

Tavuklarda kolibasillozu kontrol altına almak için sıklıkla tetrasiklin, sülfonamid ve aminoglikozit antibiyotikleri kullanılır. APEC'in tıbbi açıdan önemli β -laktamlar, kolistin ve karbapenemler dahil olmak üzere farklı antibiyotik gruplarına karşı artan direnci ileride APEC enfeksiyonlarını kontrol etmek için zorluklar olacağını göstermektedir (Kathayat vd., 2021).

Çizelge 1.2. *E. coli*'nin patotipleri (Allocati vd., 2013)

Patotip	Hastalıklar	Belirtiler	Virülans Faktörleri
Enterik <i>E. coli</i>			
Enteropatojenik <i>E. coli</i>	Çocuklarda ishal	Sulu ishal ve kusma	Bfp, Intimin, LEE
Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	Hemorajik kolit, HÜS	Kanlı ishal	Shiga toksinleri, Intimin, Bfp
Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	Gezgin ishali	Sulu ishal ve kusma	ST ve LT toksinleri, CFA'lar
Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAEC)	Çocuklarda ishal	Mukuslu ishal ve kusma	AAF'ler, sitotoksinler
(EPEC)Diffusely Adherent <i>E. coli</i> (DAEC)	Çocuklarda akut ishal	Sulu ishal, tekrarlayan İYE	Daa, AIDA
Enteroinvazif <i>E. coli</i> (EIEC)	Şigeloz benzeri	Sulu ishal, dizenteri	Shiga toksini, hemolizin, hücreyel invazyon, Ipa
Ekstraintestinal <i>E. coli</i> (ExPEC)			
Üropatojenik <i>E. coli</i> (UPEC)	Düşük İYE ve sistemik enfeksiyon	Sistitis, piyelonefrit	Tip 1 ve P fimbria; AAF'ler, hemolizin
Neonatal menenjit <i>E. coli</i> (NMEC)	Yenidoğan menenjiti	Akut menenjiti, sepsis	S fimbria; K1 kapsül
Avian patojenik <i>E. coli</i> (APEC)	Olası gıda kaynaklı hastalık	-	Tip1 ve P fimbria; K1 kapsülü
Bfp: Demet oluşturan pili	HUS: Hemolitik üremik sendrom	AAF: Agregatif yapışma fimbria	Daa: Diffuz adenin
LEE: Enterosit etkinliğinin odağı	CFA: Kolonizasyon faktörü antijeni	AIDA: Diffuz adherence ile ilişkili adezin	Ipa: İnvazyon plazmit antijeni
İYE: İdrar yolu enfeksiyonu	LT: Labil toksin	ST: Stabil toksin	

1.1.4. *Escherichia coli*'nin Direnç Mekanizmaları

E. coli'nin insan sindirim sisteminden geçişi sırasında, pH 1,5 ile 3 arasında olan midede hayatta kalmaları gerekir. *E. coli* laboratuvar koşullarında, pH 2 değerindeki stres koşullarında 2-3 saat hayatta kalabilmektedir. Midede hayatta kalmayı başarabildikten sonra nispeten nötr olan bağırsak ortamı karbonhidratlar açısından zengin ve oksijen bakımından düşüktür. Bu durum bağırsaklarda yüksek oranda fermentasyona sebep olur ve sonucunda formik, asetik, propiyonik ve laktik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerinin (SCFA'lar) açığa çıkar. Bu sebeple, bağırsakta bile asit stresi ile karşı karşıyadırlar (Kanjee ve Houry, 2013).

Fizyolojik adaptasyonlar, asit sebep olduğu hasarının etkilerini yönetmek için proton akışını, membran modifikasyonları ile periplazmik ve sitoplazmik şporonları azaltmasını ve dış zarda bulunan proteinleri içerir. Ayrıca değişik metabolik asit direnç sistemlerine sahiptirler (Kanjee ve Houry, 2013).

E. coli'nin sahip olduğu antimikrobiyal direnç konusunda dünya çapında bildiriler mevcuttur. Antimikrobiyallerin büyüme destekleyicisi veya bakteriyel enfeksiyonlarda terapötik ajanlar olarak kullanılması nedeniyle, hedeflenen *E. coli* suşları ve bağırsakta yaşayan kommensal *E. coli*'ler benzer şekillerde antimikrobiyallere maruz kalırlar ve bu yeni toksik ortamda hayatta kalmak ve büyümek için farklı stratejiler geliştirirler (Szmolka ve Nagy, 2013; Von Baum ve Marre, 2005).

Antimikrobiyal direnç, mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlar karşısında hayatta kalma ve yaşayabilir olma yeteneğidir. Antimikrobiyal ajanların temel etki mekanizmaları protein sentezi inhibisyonu, hücre duvarı sentezini önlerler, nükleik asit sentezine müdahale etmek ve bir metabolik yolun inhibisyonu şeklindedir. Bakteriyel hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki gösteren antibakteriyel ilaçlar arasında penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve monolaktamlar gibi β -laktamlar ve vankomisin ve teikoplanin dahil glikopeptidler bulunur. Makrolidler, aminoglikozidler, tetrasiklinler, kloramfenikol, streptograminler ve oksazolidinonlar ise protein sentezini baskılayarak etki ederler. Florokinonlar, DNA sentezini inhibe ederler ve sülfonamidler, trimetoprim ise folik asit yolunu bloke ederler ve sonuç olarak DNA sentezini inhibe ederek etkilerini gösterirler (Abushaheen vd., 2020; Tenover, 2006).

Aminoglikozidlere direnç : Aminoglikozidler, Streptomyces ve Micromonospora cinsinde bulunun doğal kaynaklı ilaçlardır ve hem insanlarda hem de hayvanlarda sepsis, menenjit ve idrar yolu enfeksiyonları gibi karmaşık hastalıkların tedavisinde güçlü bakterisidal etkilerinde yararlanmak için sıklıkla başka bir antimikrobiyal ile kombinasyon halinde kullanılır (Poirel vd., 2018).

Aminoglikozidlere direnç, üç farklı yolla sağlanır. Birincisi, aminoglikozid antibiyotiklerini modifiye eden üç farklı aminoglikozid değiştirici enzimleri vardır. Bunlar ATP'ye bağımlı aminoglikozid fosfotransferazlar, asetil-CoA'ya bağımlı aminoglikozid asetiltransferazlar ve ATP'ye bağımlı aminoglikozit nükleotidiltransferazlardır. Bu enzimlerin çoğu plazmidler, transpozonlar ve integronlar üzerinde kodlanmıştır, bu da onları son derece hareketli kılar ve direncin yayılmasını kolaylaştırır. İkincisi, hedef bağlanma bölgesinin değiştirilmesidir bu da mutasyon veya enzimatik modifikasyon ile meydana gelir. Enzimatik modifikasyona 16S rRNA'yı hedefleyen metiltransferazlar aracılık eder. Üçüncü yol ise, dış zar lipopolisakkaritlerinde meydana gelen alım ve akış pompalarındaki değişikliklerdir (Becker ve Cooper, 2013).

Kinolonlar ve Fluorokinolonlara direnç: Hem insanlarda hem hayvanlarda çeşitli enfeksiyonların tedavisinde önemli antimikrobiyal maddelerdir ve hemen hemen tüm bakterilere karşı bakterisidal oldukları bilinmektedir. Bu ajanlara direnç çoğunlukla ilaç hedeflerindeki genlerde (DNA giraz ve topoizomeraz IV) meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanır. Ancak dış zarın geçirgenliğinin azaltılması, hedef yapıların korunması veya yukarı doğru regüle edilmiş akış pompaları gibi diğer mekanizmalarda rol oynayabilir (Poirel vd., 2018).

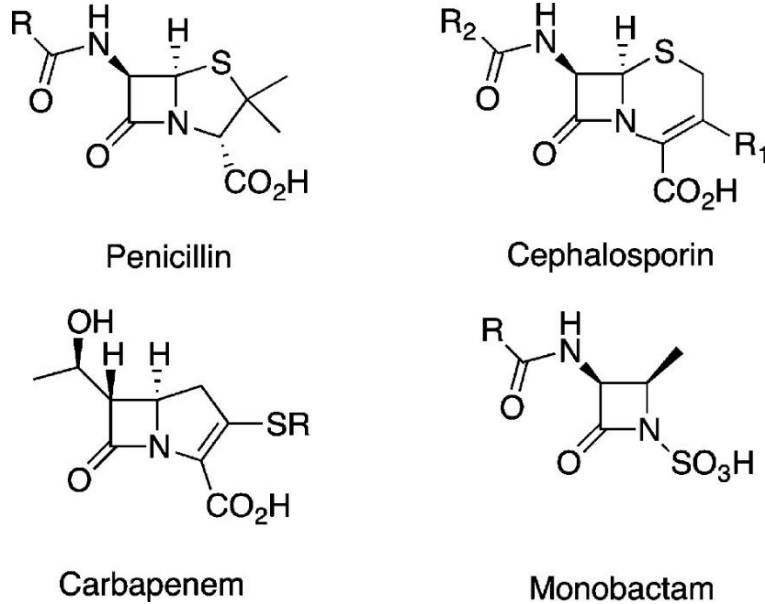
Beta-Laktam direnci: Beta laktam antibiyotikleri, bakteri hücre duvarı biyosentezine müdahale ederler ve penisilin bağlayıcı proteinlerine (PBP) kovalent olarak bağlanarak transpeptidaz aktivitesini bloke eder ve hücre duvarı sentezinde peptidoglikanın çapraz bağlanmasını önlerler (Abushaheen vd., 2020; De Angelis vd., 2020).

Beta-laktam antibiyotiklerine karşı direnç genel mekanizma; (1) mevcut PBP'lerdeki değişiklik ile hedef PBP ile ilaç arasındaki etkileşimi önleme, (2) dış zardaki porinleri değiştirerek ilacın zardan nüfuz etme ve PBP'lere ulaşma kabiliyetinin azalmasına neden olma (3) beta-laktam ilaçlarını çıkarabilen akış pompalarının varlığı, (4) beta laktamaz enzimleri ile ilacın hidrolizi şeklindedir (Pitout vd., 1997; Reygaert, 2018).

Karbapenem direnci: Karbapenem antibiyotikleri, toprakta yaşamını sürdüren *Streptomyces cattleya* mantar türü tarafından doğal olarak üretilmekte olan tienamisinin türevidir. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda etkinliği kanıtlanmış bir beta laktam antibiyotığıdır. Karbapenem direncinde en önemli mekanizma karbapenemazlardır. Karbapenemaz enzimleri penisilinleri, sefalosporinlerin çoğunu, farklı ölçülerde olmak üzere karbapenemleri ve monolaktamları hidroliz eden beta-laktamazlardır (Codjoe ve Donkor, 2017; Süleymanoğlu vd., 2022).

1.2. Beta Laktamlar

Beta laktam antibiyotikleri, çok çeşitli bulaşıcı enfeksiyonlara karşı koymak için önerilen, nispeten yüksek etkinlikleri, düşük maliyetleri, uygulama kolaylıkları ve minimum yan etkileri nedeniyle en yaygın kullanılan antibiyotiklerdir. Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş Penisilin G, beta laktamların ilkidir. Yapılarında beta laktam halkası bulunan bütün antibiyotik ajanları kapsayan geniş spektrumlu antibiyotikler sınıfına β -laktam antibiyotikleri denir. Klinik kullanımdaki ana β -laktam sınıfları, penisilin benzeri beta-laktam antibiyotikleri, sefalosporinler, karbapenemler ve monolaktamlardır (Alfei ve Schito, 2022; Zango vd., 2019). Şekil 1.1.'de beta laktam antibiyotik sınıflarının yapıları gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Beta laktam antibiyotik sınıflarının yapıları (Worthington ve Melander, 2013)

Gram negatif organizmalarda, en yaygın β -laktam direnç mekanizması, sahip oldukları β -laktamaz enzimlerinin üretimidir.

1.2.1. Beta Laktamazlar

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasında bulunan amid bağıny parçalayarak antibiyotiği etkisizleştiren enzimlerdir (Süleymanoğlu vd., 2022). 1940'ta *E. coli* izolatında ilk beta-laktamaz tanımlanmış ve yine bir *E. coli* suşunda plazmit aracılı ilk beta-laktamaz TEM-1 1965 yılında tanımlanmıştır. *Klebsiella pneumoniae* ve *E. coli*'de başka bir plazmit aracılı beta-laktamaz olan SHV-1 (sülfidril değişkeni) bulunmuştur (Turner, 2005). Beta-laktamazlar substrat spesifitelerine göre dört ana grupta tanımlanabilir: penisilinazlar, AmpC tipi sefalosporinazlar, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar ve karbepenemazlar (Bush, 2010).

Bugüne kadar 530'un üzerinde beta-laktamaz enzimi olduğu bildirilmiştir. Beta-laktamazların sınıflandırılmasında en yaygın olarak Amber moleküler sınıflandırılması ve Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel sınıflandırılması kullanılmaktadır. Amber sınıflandırılmasına göre beta-laktamazlar nükleotid ve amino asit dizilişlerine göre A, B, C ve D olmak üzere dört sınıfta incelenir. A, C ve D sınıfları serin bazlı bir mekanizma ile hareket ederken, B sınıfı etkileri için çinkoya ihtiyaç duyar ve metallo-beta laktamaz olarak adlandırılır (Dağlar ve Öngüt, 2012; Kong vd., 2010; Lima vd., 2020; Majiduddin vd., 2002).

Bush-Jacoby-Medeiros tarafından 1995 yılında önerilen fonksiyonel sınıflandırmada beta-laktamazlar dört gruba ayrılmıştır. Grup 1 sefalosporinazlar, birçok *Enterobacteriales* ve birkaç başka organizmanın kromozomları üzerinde taşınan moleküler sınıf C'ye ait sefalosporinazlardır. Grup 2 serin beta-laktamazlar, moleküler sınıfları A ve D dahil olmak üzere, son yıllarda genişlemiş spektrumlu beta laktamazların tanımlanmasındaki artışla beraber en büyük beta-laktamaz grubunu ifade eder. Grup 3, hem yapısal hem de işlevsel olarak benzersiz olan metalo-beta-laktamazlardır. Son olarak Grup 4 beta laktamazlar 1995 fonksiyonel sınıflandırılmaya dahil edilmiştir ancak mevcut şemadan çıkarılmıştır (Bush ve Jacoby, 2010) .

1.2.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL)

GSBL, Ambler sınıf A ve Bush-Jacoby-Medeiros grup 2be'de sınıflandırılırlar (Falagas ve Karageorgopoulos, 2009). 1980'lerin başında üçüncü kuşak sefalosporinlerin klinik uygulamaya girmesinden sonra 1983'te genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilen plazmit aracılı beta-laktamazlarla ilişkili ilk rapor yayınlandı. Daha sonra bu yeni

beta-laktamazlar GSBL olarak adlandırılmıştır (Paterson ve Bonomo, 2005). 1988'de Japonya'da, bir laboratuvar köpeğinin *E. coli* suşu ile enfekte olması ile ilk GSBL saptandığı bildirilmiştir (Carattoli, 2008).

GSBL, sefotaksim, seftazidim ve aztreonam gibi oksimino beta-laktamları, monobaktamları hidrolize eden ve sefamisinler, karbapenemler ve klavulanik asit tarafından inhibe edilen enzimlerdir (Castanheira vd., 2021; Ersoy, 2019; Oteo vd., 2010).

1.2.2.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Türleri

TEM grubu GSBL'ler: TEM tipi GSBL'ler plazmit aracılı beta-laktamaz TEM-1 ve TEM-2'in varyantlarıdır. 1965'te Atina, Yunanistan'da Temoneria adında bir hastadan alınan *E. coli* izolatlarında TEM-1 tespit edilmiş. (Paterson ve Bonomo, 2005). TEM grubu beta-laktamazların sayısı 100'ü geçmektedir. TEM-1 ve TEM-2 dışında hepsi GSBL'dir ve en yaygın *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de bulunur (Ghafourian vd., 2015).

SHV grubu GSBL'ler: SHV, sülfat hidril değişkeni olarak adlandırılırlar. 1983'te, Almanya'da *Klebsiella ozaenae* izolatında, sefotaksimi ve daha az ölçüde seftazidimi hidrolize eden ilk GSBL olan SHV-2 keşfedildi. Dünya çapında SHV-5 ve SHV-12, *Enterobacteriales*'de bulunan en yaygın GSBL varyantlarıdır (Castanheira vd., 2021; Paterson ve Bonomo, 2005).

CTX-M grubu GSBL'ler: CTX-M beta-laktamaz terimi, sefotaksime karşı güçlü hidrolitik aktivitesini yansıtmaktadır. CTX-M, sefalotini benzilpenisilinden ve sefotaksimi seftazidimden daha iyi hidrolize edebilir. *E. coli* suşunda CTX-M tipi beta-laktamaz ilk defa 1989'da Almanya'da tespit edilmiştir. CTX-M, GSBL'nin en yaygın grubu olan TEM ve SHV'nin 2000'li yıllarının başında yerini alarak en yaygın GSBL grubu olmuştur (Castanheira vd., 2021; Dağlar ve Öngüt, 2012). Amino asit dizilişlerine göre beş farklı CTX-M grubu (CTX-M-1-9 ve CTX-M-25) tanımlanmıştır. *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesi olan *Kluyvera* türlerindeki kromozomal beta-laktamaz genleri, CTX-M-1-2 ve CTX-M-9 grubunun spesifik *bla_{CTX-M}* genleri için potansiyel kaynağı olduğu belirlenmiştir. CTX-M grupları, kompleks ve homojen olmayan bir enzim grubudur ve bu özellikleri ile diğer GSBL'lerden farklıdır. Edinilmiş CTX-M tipi beta-laktamazlar genellikle *Enterobacteriales*'de rapor edilmiştir ve en yaygın konakçıları ise *E. coli* ve *K. pneumoniae*'dir (Cantón ve Coque, 2006; Canton vd., 2012; D'Andrea vd., 2013).

OXA grubu GSBL'ler: Bu grup oksasilini hidrolize edebildikleri için OXA ismini almıştır ve Ambler sınıf D ve Bush-Jacoby-Merdeiros fonksiyonel grup 2d'de yer alırlar. GSBL olarak tanımlanan 27 oksasilinaz enzimi vardır. Genel olarak *Pseudomonas aeruginosa*'da bulunmasına rağmen birçok Gram-negatif bakteride de bulunmuştur. *E. coli* izolatlarında %1 ve %10 oranları arasında OXA-1 tespit edilmiştir (Castanheira vd., 2021; Paterson ve Bonomo, 2005).

1.2.3. GSBL Tespit Yöntemleri

GSBL üreten *Enterobacterales* üyesi bakteriler hem klinik açıdan hem de halk sağlığı için ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Ayrıca GSBL üreten *Enterobacterales* üyesi bakterilerin, florokinolonlar ve aminoglikozidler dahil diğer antimikrobiyal ajanlara da direnç kazandıran genlere sahip olduğu ve bu sebeple çoklu ilaca dirençli olabilecekleri bulunmuştur (McDonald vd., 2021).

GSBL'lerin mikrobiyoloji laboratuvarlarında tespiti için fenotipik ya da genotipik testler yapılmaktadır. Fenotipik yöntemler GSBL enzimlerinin farklı sefalosporinleri hidroliz edebilme yeteneğini saptamak için yapılan moleküler olmayan testlerdir ve genellikle klinik teşhis laboratuvarlarında kullanılır çünkü uygulanması kolay ve maliyeti düşüktür. Genotipik testler ise moleküler teknikler ile GSBL enzimlerinin üretiminden sorumlu genleri tespit etmektedir ve esas olarak referans veya araştırma laboratuvarlarında kullanılmaktadır (Falagas ve Karageorgopoulos, 2009; Pitout ve Laupland, 2008).

1.2.3.1. GSBL Tarama Testi

Enterobacteriaceae üyelerinde GSBL saptanması için ilk olarak oksimino-sefalosporinlere duyarlı olmama özelliğinin saptanması önerilmektedir. EUCAST ve CLSI, sefotaksim, seftriakson, seftazidim ve sefpodaksim için tarama sınır değerinin MİK >1mg/L olmasını önermektedir. Disk difüzyon yönteminde sefotaksim (veya seftriakson) ile seftazidim kombinasyonu veya tek olarak sefpodaksim test edilebilir (TMC, 2017). Çizelge 1.3.'de gösterildiği gibi.

Çizelge 1.3. *Enterobacteriaceae* GSBL tarama yöntemleri (TMC, 2017)

Yöntem	Antibiyotik	GSBL testi uygulanması için sınır değeri
Sıvı veya agar dilüsyonu	Sefotaksim/seftiakson ve Seftazidim	MİK>1mg/L
	Sefpodoksim	MİK>1mg/L
Disk difüzyon	Sefotaksim (5µg) veya Seftriakson (30µg) ve Seftazidim (10µg)	İnhibisyon zonu <21mm
		İnhibisyon zonu <23mm
		İnhibisyon zonu <22mm
	Sefpodoksim(10µg)	İnhibisyon zonu <21mm

1.2.3.2. GSBL Doğrulama Testleri

1.2.3.2.1. Fenotipik Doğrulama Yöntemleri

Kombine Disk Yöntemi: Bu yöntemde sadece sefalosporin (sefotaksim, seftazidim, sefepim) içeren (30µg) diskler ile sefalosporin+klavulanik asit (30/10 µg) eklenmiş kombinasyon diskleri kullanılır. Bir gecelik inkübasyon sonrasında disklerin etrafındaki inhibisyon zon çapları ölçülerek kıyaslama yapılır. Kombinasyon diskindeki zon çapı, sefalosporin içeren diskin zon çapından ≥ 5 mm daha genişse test pozitifdir (Dağlar ve Öngüt, 2012; TMC, 2017).

Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST): *Enterobacterales* üyelerinde GSBL üretimini saptama için özel olarak geliştirilen ilk testtir. Merkeze yerleştirilen amoksisilin-klavulanik asit (AMC 20/10 µg) diski ve 20 mm uzaklıkta yerleştiren sefalosporin (30 µg) içeren disklerin birbirlerine bakan yüzlerinde genişleme veya anahtar deliği gibi bir görüntünün oluşması testin pozitif olduğunu gösterir. ÇDST için diskler arasındaki uzaklık belirleyicidir ve 30 µg için optimal uzaklık 20 mm'dir ancak bazı durumlarda bu uzaklık azaltılabilir (15 mm) veya artırılabilir (30 mm) (Drieux vd., 2008).

E-test Yöntemi: Genişlemiş spektrumlu sefalosporinler ve klavulanik asit arasındaki sinerjiyi ölçmek için geliştirilmiştir. E-test GSBL striplerinin bir ucunda sadece sefotaksim veya seftazidim veya sefepim içerirken diğer ucu ise klavulanik asit ile kombinasyonlarını içerir. Eliptik oluşan inhibisyon zonunun stribi kestiği yer MİK değerini verir ve klavulanik asit varlığında MİK değerinin ≥ 8 kat düşüş gözleniyorsa testin pozitif olduğunu gösterir (Drieux vd., 2008).

Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi: Tek başına sefotaksim, seftazidim ve sefepim antibiyotiklerinin 0,125-512 mg/L konsantrasyonlarında iki katlı seri dilüsyonları ve 4 mg/L klavulanik asit ile kombinasyonlarının MİK değerleri saptanır ve kombine olan MİK değeri, tek başına olan MİK değerinden ≥ 8 kat düşükse test pozitifdir (TMC, 2017).

Otomatize Sistemler: Bu amaçla kullanılan VITEK 2 (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) cihazı sefalosporinlerin tek başına ve klavulanik asit varlığında ölçülen antibakteriyel aktivitesinin eş zamanlı değerlendirilmesi prensibiyle çalışmaktadır. Sırasıyla 1,0 mg/L sefepim veya 0,5 mg/L sefotaksim ya da seftazidim tek başına ya da 10 veya 4 mg/L klavulanik asit ile kombine olanlar kart kuyularına yerleştirilir. VITEK 2 makinesine yerleştirilir ve her antibiyotik için düzenli aralıklarla bulanıklılık ölçülür. Sonuçlar bilgisayarlı uzman sistem aracılığıyla negatif ya da pozitif olarak yorumlanır. Phoenix (Becton Dickinson, Sparks, MD/ABD) benzer bir sistemdir, CLSI standartlarını temel alarak, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile GSBL direnç mekanizmasını tespit etmektedir (Drieux vd., 2008; Öcal, 2012).

1.2.3.3. Genotipik Doğrulama Yöntemleri

GSBL'leri genotipik olarak belirlemek için yaygın olarak kullanılan yöntem beta-laktamaz genlerinin oligonükleotid primerler in vitro amplifiye edilerek polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılarak belirlenmesidir. Diğer bir yöntem ise, PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analizidir. Bu yöntemlerin yanı sıra tüm genom dizileme analizi de kullanılmaktadır (Öcal, 2012; Pitout ve Laupland, 2008).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. *Escherichia coli* İzolatları

Ankara ili Gölbaşı, Çubuk ve Haymana ilçelerinde bulunan çiftliklerden toprak ve gaita örneklerinin alınabilmesi için 15/06/2022 tarihli, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nden alınan izin belgesi ile 11/09/2022 tarihinde örneklerin alınmasına başlanılmıştır. Toprak örnekleri alınırken yüzeyin yaklaşık 5 cm altından ve nemli olan bölgelerden alınmasına ve gaita örnekleri alınırken de taze feçes olmasına dikkat edilmiştir. Gölbaşı ilçesinde bulunan çiftliklerden 61 tane toprak örneği, 18 tane gaita örneği olmak üzere toplam 79 örnek toplanmıştır. Çubuk ilçesindeki çiftliklerden 41 tane toprak, 15 tane gaita örneği toplanmıştır. Haymana ilçesindeki çiftliklerden ise 39 tane toprak, 10 tane gaita örneği toplanmıştır. Üç ilçeden 141 tane toprak ve 43 tane gaita örneği alınarak toplam 184 örnek toplanmıştır.

2.1.2. Kullanılan Besiyerleri

Mac Conkey Agar (MCA)

Çizelge 2.1. Mac Conkey agar besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Bacto – Peptone	20
Proteose – Pepton	3
Bacto – Lactose	10
Bacto – Bile Salts No.3	1,5
Sodium Chloride	5
Bacto – Agar	15
Bacto – Neutral Red	0,03
Bacto – Crystal violet	0.001
	pH 7,1

Besiyeri karışımından 50 gram tartılıp 1000 mL distile su ile ısıtılarak erimesi sağlandıktan sonra pH 7,1 olarak ayarlandı. Daha sonra 121 °C’ de otoklavda 15 dakika steril edildi.

Eosin Methylene Blue (EMB) Agar – FLUKA

Çizelge 2.2. Eozin Methylene Blue (EMB) agar besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Peptone	10,0
Lactose	10,0
Dipotassium Hydrogen Phosphate	2,0
Methylene Blue	0,065
Eosin Y	0,4
Agar	15,0
	pH 7,1 ± 0,2

Besiyeri karışımından 37,5 g tartılıp 1000 mL distile su içerisinde ısıtılarak ve çalkalayarak erimesi sağlandı. Son pH değeri 7,1 ± 0,2’ye ayarlandıktan sonra otoklavda 121 °C’ de 15 dakika steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri 45- 50 °C’ye kadar soğuduktan sonra yaklaşık 25 mL olacak şekilde steril petri plaklarına döküldü.

***E. coli* Agar - HIMEDIA**

Çizelge 2.3. *E. coli* agar besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Tryptone	14,0
Peptone, special	5,0
Bile salts mixture	1,50
Disodium dihydrogen phosphate	1,0
Sodium dihydrogen phosphate	0,60
Sodium chloride	2,40
X-Glucuronide	0,075
Agar	12,0
	pH 7,2±0,2

1000 mL distile suda 36,57 gram besiyeri ısıtılarak çözünmesi sağlanarak süspansedildi. pH değeri $7,2\pm 0,2$ olarak ayarlanan besiyeri otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 15 dakika steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri $45- 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' ye soğuduktan sonra steril petri kaplarına döküldü ve $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki etüve kaldırılarak sterilliği kontrol edildi.

Mueller-Hinton Agar (MHA) -OXOID

Çizelge 2.4. Mueller-Hinton agar besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Beef extract	2,0
Casein hydrolysate	17,5
Strach	1,5
Agar	17,0
	pH $7,3 \pm 0,1$

1000 mL distile su içerisine besiyeri karışımından 38 g tartılıp eklendi ve kaynatılarak erimesi sağlandı. Hazırlanan besiyeri $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 15 dakika otoklavda steril edildi. $45- 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' ye soğuduktan sonra 25 mL steril petrilere döküldü.

Tryptic Soy Broth (TSB)- Fluka

Çizelge 2.5. Tryptic Soy Broth besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Casein peptone	17,0
Soya peptone	3,0
Sodium chloride	5,0
Dipotassium hydrogen phosphate	2,5
Glucose	2,5
	pH $7,3 \pm 0,2$

Besiyeri karışımından 30 g tartılarak 1000 mL distile suda çözüldü ve pH'sı $7,3\pm 0,2$ olarak ayarlanarak tüplere dağıtıldı. Daha sonra hazırlanan besiyeri otoklavda $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika steril edildi.

İndol Besiyeri

Çizelge 2.6. İndol besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Tryptophan	1,0
NaCl	5,0
Broth	8,0
Distile su	1000 mL

Hassas terazide tartımları yapılan maddeler 1000 mL distile su içerisinde ısıtılarak çözülmesi sağlandı ve pH değeri 7,2 olarak ayarlandıktan sonra tüplere 3 mL olacak şekilde dağıtıldı. Hazırlanan besiyerleri otoklavda 121 °C’ de 15 dakika steril edildi.

MR-VP Besiyeri - MERCK

Çizelge 2.7. MR-VP besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g)
Peptone	5,0
Glikoz	5,0
K ₂ HPO ₄	5,0
Distile su	1000 mL
	pH 7,5

Tartımları alınan maddeler 1000 mL distile suda ısıtılarak eritildi, süzüldü ve pH’sı 7,5’e ayarlandı. Daha sonra 5 g glikoz eklenerek karıştırıldı ve tüplere 1,5’ er mL dağıtılarak 121°C’ de otoklavda steril edildi.

Simmons Sitrat Agar – PLASMATEC

Çizelge 2.8. Simmons Sitrat agar besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Magnesium sulphate	0,2
Ammonium dihydrogen phosphate	1,0
Dipotassium phosphate	1,0
Sodium citrate	2,0
Sodium chloride	5,0
Bromothymol blue	0,08
Agar	15,0

Besiyeri karışımından 28 g tartılıp 1000 mL distile suda ısıtılarak çözüldü ve pH 6,9' a ayarlandıktan sonra tüplere 3-5 mL olmak üzere bölünerek 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edildi. Otoklavdan çıktıktan sonra yarı yatık konumda donduruldu.

Triple Sugar Iron Agar (TSA) - PLASMATEC

Çizelge 2.9. Triple Sugar Iron agar besiyeri kimyasal içeriği

Bileşenler	Miktar (g/L)
Beef extract	3,0
Yeast extract	3,0
Peptone	20,0
Sodium chloride	5,0
Lactose	10,0
Sucrose	10,0
Glucose	1,0
Ferric citrate	0,3
Sodium thisulphate	0,3
Phenol red	0,025
Agar	12,0
	pH 7,4 ± 0,2

1000 mL distile suya besiyeri karışımından 65 g tartılarak eklendi ve ısıtılarak erimesi sağlandı. pH'sı 7,4' e ayarlandıktan sonra tüplere 3-5 mL olacak şekilde eklendi ve otoklavda 121 °C' de 15 dakika steril edildi. Steril edilen besiyeri yarı yatık konumda donduruldu.

2.1.3. Kullanılan Boya, Çözelti ve Ayıraçlar

2.1.3.1. Boyalar

- Kristal viyole Solüsyonu
- Safranin Solüsyonu

2.1.3.2. Çözeltiler ve Ayıraçlar

- **Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi (%0,85)**

- **Kovacs Ayıracı -MERCK**

- **Metil Red**

Metil Red	0,04 g
Etanol	40 mL
Distile su	100mL

- **Alfa Naftol**

Alfa Naftol	5 g
Saf etil alkol	100 mL

- **KOH**

KOH	40 g
Distile su	100 mL

- **%20' lik Gliserol**

2.1.4. Kullanılan Antibiyotikler Diskleri

- 1- Ampisilin (Bioanalyse)
- 2- Trimetoprim / Sulfametoksazol (Bioanalyse)
- 3- Sefazolin (Bioanalyse)
- 4- Siprofloksasin (Bioanalyse)
- 5- Gentamisin (Bioanalyse)
- 6- Seftazidim (Bioanalyse)
- 7- Sefotaksim (Bioanalyse)
- 8- Seftriakson (Bioanalyse)
- 9- Sefepim (Bioanalyse)
- 10- Amikasin (Bioanalyse)
- 11- İmipenem (Bioanalyse)
- 12- Meropenem (Bioanalyse)
- 13- Sefepim- Klavulanik Asit (Bioanalyse)
- 14- Amoksisilin – Klavulanik Asit (Bioanalyse)

2.2. Yöntem

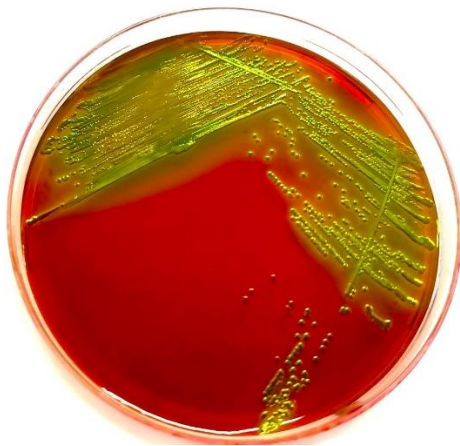
2.2.1. *Escherichia coli*' nin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Ankara'nın Gölbaşı, Çubuk ve Haymana ilçelerinde bulunan çiftliklerden çalışmada kullanılmak üzere toprak ve gaita örnekleri alınmıştır. Toplam 184 örnek toplanmış olup bunlardan 43 tanesi gaita örneği ve 141 tanesi toprak örneğidir. Laboratuvara getirilen örnekler TSB besiyerinin içerisine alınmış ve 37 °C' de 24 saat inkübe edilmiştir.

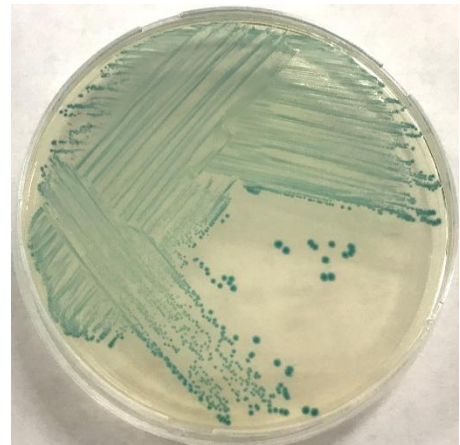
2.2.1.1. Mac Conkey Agara, EMB Agara ve *E. coli* Agara Ekim

TSB besiyerinde üretilen bakteri örnekleri MCA besiyerine ekilerek bir gece inkübasyona bırakıldı. Bu şekilde bakterilerin laktoz pozitif ve laktoz negatif olarak ayrımı sağlandı. *E. coli* laktoz pozitif bir bakteri olduğu için besiyerinde kırmızı renkte koloni oluşturanlar ardından EMB agara ekilerek bir gece inkübasyona bırakıldı. EMB agar, Gram pozitif bakterilerin gelişimini baskılar ve metalik röfle veren koloniler *E. coli* olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle inkübasyon sonunda metalik röfle veren bakteriler *E. coli* şüphelisi olarak ayrıldı. Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi.

Metalik röfle veren bakteriler *E. coli* agara ekilerek 24 saat inkübe edildi. *E. coli* agarda mavimsi yeşil renk veren bakteriler, biyokimyasal testlerde kullanılmak üzere ayrıldı. Şekil 2.2.'de gösterildiği gibi.



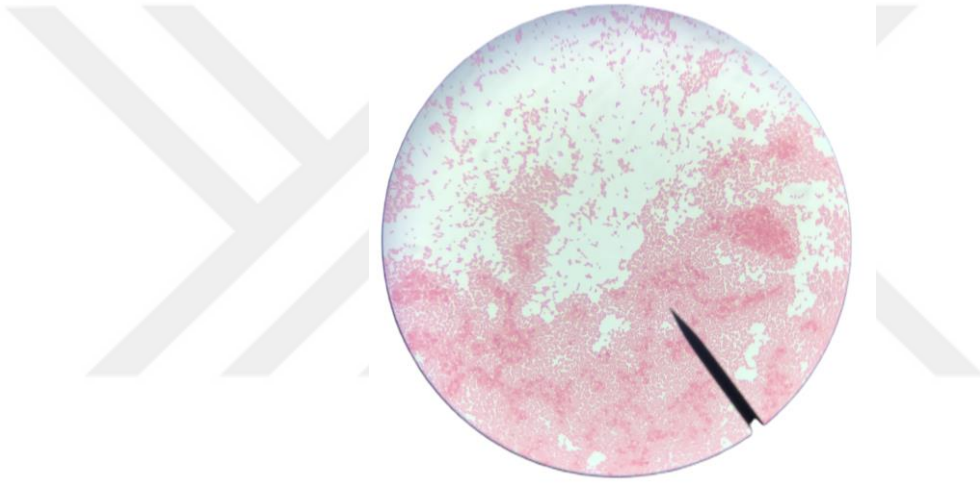
Şekil 2.1. *E. coli*' nin EMB agardaki görüntüsü



Şekil 2.2. *E. coli*' nin *E. coli* agardaki görüntüsü

2.2.1.2. Gram Boyama

Taze bakteri kültürlerinden yayma preparat hazırlandı ve kurutularak fikse edildi. Daha sonra lamın üzerine kristal viyole dökülerek 2 dakika beklenildi ve distile su ile yıkandı. Preparatın üzerine iyot çözeltisi eklenerek 1 dakika beklenip distile su ile yıkandı. %96'lık etil alkol ile dekolorize edildi ve distile su ile yıkandı. Preparata karşıt boya olatak safranin dökülerek 30 saniye bekletilerek yine distile su ile yıkandı. Lamlar kurutularak immersiyon yağında mikroskopta incelendi. İnceleme sonrası kırmızı-pembe renkli bakteriler gram negatif olarak değerlendirildi. Şekil 2.3.'de *E. coli*'nin gram boyama sonucu mikroskop görüntüsü gösterilmiştir.



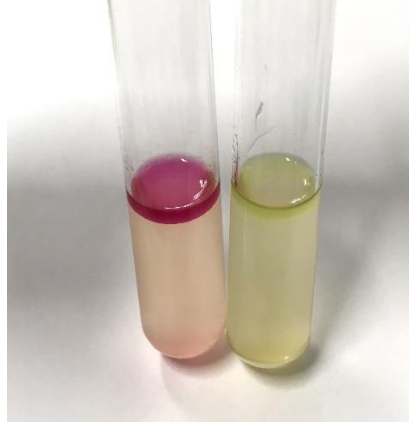
Şekil 2.3. *E. coli*'nin Gram boyama sonrası mikroskop görüntüsü

2.2.2. Biyokimyasal Testler

2.2.2.1. İndol Deneyi

Bakterilerin sahip oldukları triptofanaz enzimleri sayesinde triptofandan indol meydana getirebilme yeteneğinin araştırılmasına dayanır (Bilgehan, 2002).

Hazırlanmış indol besiyerine incelenecek bakteriler ekilir ve 18-24 saat 35°C' de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında Kovacs ayracı tüplerin kenarından damlatılarak eklendi ve daha sonra besiyerinin üzerinde parlak kırmızı halka oluşan tüplerdeki bakteriler indol pozitif olarak değerlendirildi. Şekil 2.4.'de gösterilmiştir.

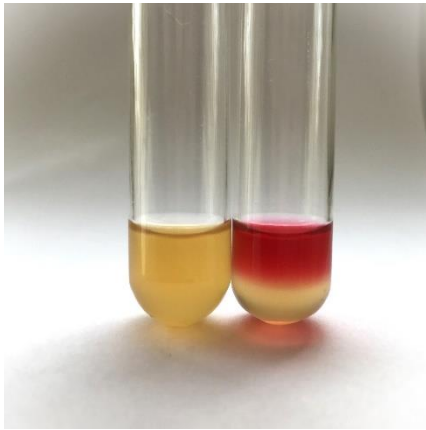


Şekil 2.4. İndol pozitif ve negatif *E. coli* izolatu

2.2.2.2. Metil Red Deneyi

Bakteriler karbonhidratları (glikozu) fermente ederler ve formik asit, asetik asit ve laktik asit gibi ürünler meydana getirirler. Bunun sonucunda besiyerinin pH' sının metil red ayracı ile saptanması sağlanır (Bilgehan, 2002).

Clarck Lubs besiyerine bakteriler ekilerek 35°C sıcaklığında 48 saat boyunca bekletildi. Daha sonra tüplere 5-6 damla metil red ayracı eklendi ve kırmızı renk oluşturan bakteriler pozitif olarak kabul edildi. Şekil 2.5. ve Şekil 2.6.'de renk değişimi gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Metil red negatif ve pozitif



Şekil 2.6. Metil red pozitif

2.2.2.3. Voges Proskauer Deneyi

Bu test, glikozun fermente edilerek parçalanması esnasında meydana gelen pirüvik asitin, bazı bakterilerde bulunan enzimatik sistemlerle son ürün olarak asetil metil karbinol üretilmesine dayanır (Bilgehan, 2002).

Bakteriler Clarck Lubs besiyerine ekilerek 35°C' de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra 0,6 mL alfa-naftol ayırıcından eklenerek ardından 0,2 mL KOH ayırıcından katıldı. 10-15 dakika bekledikten sonra kırmızı renk oluşumunun gözlenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirildi ve 1 saat beklemenin ardından renk değişimi gözlemlenmeyen tüplerdeki bakteriler negatif olarak kabul edildi. Şekil 2.7.'da ve Şekil 2.8.'de gösterdiği gibi.



Şekil 2.7. Voges proskauer negatif

Şekil 2.8. Voges proskauer pozitif

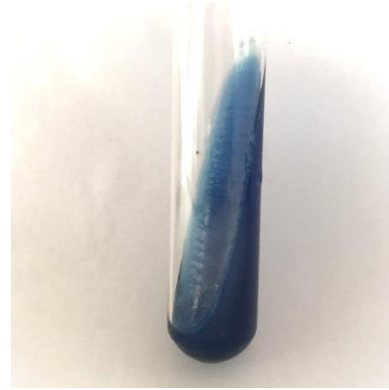
2.2.2.4. Sitrat Deneyi

Karbon kaynağı olarak sadece sitrati kullanma yeteneği olan bakterilerin ayırımında kullanılır (Bilgehan, 2002).

Saf bakteri kültüründen Simmons Citrate Agar besiyerine ekim yapılarak 35°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılan tüplerde inkübasyon sonunda besiyerinin renginin değişmesine göre yorum yapıldı. Besiyerini maviye dönüştüren bakteriler sitrat pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 2.9.), renk değişimi olmayan besiyerlerindeki bakteriler sitrat negatif olarak değerlendirildi (Şekil 2.10.).



Şekil 2.9. Sitrat negatif



Şekil 2.10. Sitrat pozitif

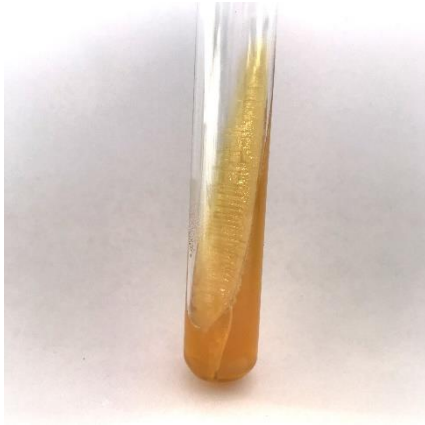
2.2.2.5. Triple Sugar Iron Agar Ekimi (Üç Şekerli Demirli Besiyeri)

Gram negatif bakterilerin glikoz, sükröz ve laktoz üzerindeki etkilerinin ayrıca H₂S oluşturabilme yeteneklerinin araştırılması temeline dayanır (Bilgehan, 2002).

Saf bakteri kültüründen besiyerine ekim yapıldı ve 35 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. Glikozu fermente edebilme yeteneği olan bakteriler reaksiyon sonunda asit açığa çıkması ile fenol kırmızısını sarıya çevirirler. Glikozu fermente eden fakat laktoz ve sükrözü fermente edemeyen bakteriler tüpün dibinde sarı, yatak kısmında ise kırmızı renk oluştururlar. Glikozu fermente eden, laktozu veya sükrözü, hem laktozu hem de sükrözü fermente eden bakteriler çok miktarda asit oluştururlar. Bu nedenle hem dipte hem de yatak kısmında sarı renk oluşumu gözlenir.

Fermantasyon sonucunda gaz oluşumu varsa besiyerinin içinde gaz kabarcıklarının oluşması ya da besiyerinin parçalanması gözlenir. Ayrıca besiyerinin dip kısmında siyah renk oluşumu bakterinin H₂S oluşturduğu anlamını taşır.

E. coli üç şekeride fermente edebildiğinden tüplerin hem dip hem de yatak kısmının sarı renge dönmesi beklenir. Şekil 2.11. ve Şekil 2.12.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.11. TSI agarda üç şekerin fermente görüntüsü



Şekil 2.12. TSI agarda gaz oluşumu görüntüsü

2.2.3. Testlerin Değerlendirilmesi

Yapılan biyokimyasal testler sonucunda MCA besiyerinde kırmızı renk vererek laktoz pozitif olan, EMB agara ekilerek metalik röfle veren, indol testi olumlu olan, metil red testi pozitif olan, Voges Proskauer testi negatif olan, sitrat testi negatif olan (IMVIC testleri +,+, -,-) ve TSI testinde besiyerinin dip ve yatık kısmını sarı renge çeviren bakteriler *E. coli* olarak kabul edildi. İdentifikasyonu yapılan izolatlar daha sonraki aşamalarda kullanılmak üzere ependorflarda %20'lik gliserol çözeltisi içerisinde stoklanarak -20°C' de saklandı.

2.2.4. MALDI-TOF MS Yöntemi

MALDI-TOF MS analizi için gerekli olan maddeler; ACN (asetonitril; HPLC saflıkta, Sigma-Aldrich), TFA (trifloroasetik asit; Sigma-Aldrich), FA (formik asit; Sigma-Aldrich), MALDI-TOF MS matrisi olarak kullanılan HCCA (α -siyano-4-hidroksisinnamik asit; Bruker), DNAaz ve RNAaz içermeyen 0.1 Bruker güvenli filtrelenmiş ultra saf su (Sigma-Aldrich), *Escherichia coli* ve RNAaz ve Myoglobin protein profilleri içeren BTS (bakteriyel test solüsyonu; Bruker) solüsyonudur. HCCA matris çözeltisi, 250 μ L standart solvent çözeltisi (50 μ L asetonitril + 47.5 μ L ultra saf su + 2.5 μ L trifluoroasetik asit) ile son konsantrasyonu 10 mg HCCA/mL oranında olacak şekilde hazırlanmıştır.

Mikrobiyal biyokütle analizi için steril kürdan ucu ile tek bir koloniden alınan kültür çelik 96 MSP-MALDI (Bruker Daltonics) plakasına ince bir film halinde uygulandıktan sonra üzerine 1 μ l (α -siyano-4-hidroksisinnamik asit; Bruker) HCCA matris çözeltisi ilavesi

yapılacaktır. Tüm spotlanmış örnekler kuruduktan sonra, örnek yüklü bu 96 MSP plaka MALDI TOF MS cihazına (Bruker Microflex LT, Almanya) yerleştirilerek okuma gerçekleştirilecektir.

Sistem, iyon kaynağı olarak 337 nm'de 60 Hz'lik bir nitrojen lazer kullanılarak doğrusal pozitif iyon modu ile çalıştırılan optimize edilmiş yöntem ile 2.000-20.000 Da kütle aralığında tarama yapacaktır. Kütle spektrumlarını elde edebilmek için her numunenin ölçülebilmesi için 240'lık 40 paketten oluşan lazer atımları yapılacaktır. Her örnek için üç okuma yapılarak tekrarlanan çalışmalarda en yüksek puanın elde edildiği sonuçlar dikkate alınacaktır. Kütle kalibrasyonu için BTS (Bakteriyel test solüsyonu, Bruker) kullanılacak ve bu işlem numunelerle eş zamanlı olarak gerçekleştirilecektir.

2.2.5. *Escherichia coli* İzolatlarında İn Vitro Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması

İzole edilen *E. coli*' lerin sahip olduğu antibiyotik duyarlılık verileri Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) önerilerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı.

Bir gün önceden taze pasajı yapılan bakteriler steril eküvyon yardımı ile 3 mL'lik steril fizyolojik su bulunan tüplerin içerisine alınarak 0,5 McFarland ($1-2 \times 10^8$ CFU/mL) bulanıklığına ayarlandı. Bulanıklığı 0,5 McFarland olan bakteri süspansiyonlarından steril eküvyon çubuğu ile MHA besiyerinin yüzeyine boş alan kalmayacak şekilde yayıldı. Bakteri ekim yapılan petrilere antibiyotik diskleri yerleştirildi ve petrilere 37°C' de 18 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonlanınca antibiyotik disklerinin çevresinde oluşmuş olan zon çapları kumpas yardımı ile ölçüldü. Ölçülen zon çapı değerleri EUCAST kriterlerine göre değerlendirildi.

Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için; Ampisilin (AMP; 10 µg), Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT; 25 µg), Sefazolin (CZ; 30 µg), Seftazidim (CAZ; 10 µg), Sefotaksim (CTX; 5 µg), Seftriakson (CTR; 30 µg), Siprofloksasin (CIP; 5 µg), Gentamin (GEN; 10 µg), Amikasin (AK; 30 µg), İmipenem (IPM; 10 µg), Meropenem (MEM; 10 µg) diskleri kullanıldı.

2.2.6. GSBL Varlığının Belirlenmesi

2.2.6.1. Çift Disk Sinerji Testi

Disk difüzyon yöntemi ile elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçlarında EUCAST sınır değerlerine göre sefotaksim ve seftazidimden birine veya her ikisine orta duyarlı ya da dirençli olan bakteri izolatlarına GSBL varlığının araştırılması amacıyla Çift Disk Sinerji testi yapıldı.

Bir gecelik taze bakteri kültüründen 0,5 McFarland bulanıklılık değerinde bakteri süspansiyonu hazırlandı ve MHA besiyeri yüzeyine yayıldı. Petrinin ortasına amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC 20/10 µg) ve çevresine merkezden 15 mm – 30 mm uzaklıkta olacak şekilde sefotaksim (CTX; 30 µg), seftazidim (CAZ; 30 µg) ve sefepim (FEB; 30 µg) diskleri yerleştirildi. Ardından petriler 37°C’ de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Sefalosporin (sefotaksim, seftazidim, sefepim) disklerinden herhangi birinin zon çapının, amoksisilin-klavulanik asit diskine bakan tarafında genişleme ya da arada üremenin görülmediği anahtar deliğine benzeyen bir görüntünün oluştuğu plakların görülmesi pozitiflik olarak değerlendirildi (EUCAST, 2022).

2.2.6.2. Kombine Disk Yöntemi

Çift disk yöntemi sonucunda GSBL varlığı belirsiz olan izolatlara kombine disk yöntemi uygulandı. Taze kültürlerden 0,5 McFarland bulanıklık ayarı yapılan bakteri süspansiyonları hazırlandı ve MHA besiyerine ekim gerçekleştirildi. Plaklara klavulanik asit (10 µg) bulunduran ve bulundurmayan sefepim (30 µg) diskleri yerleştirilir. Etüvde 37°C’ de bir gece inkübasyonu yapıldı ve klavulanik asit bulunduran ve bulundurmayan disklerin etrafındaki zon çapları kumpas yardımı ile ölçüldü ve karşılaştırıldı. Kombinasyon diski çevresindeki zon çapı, klavulanik asit bulundurmayan disk çevresindeki zon çapından ≥ 5 mm daha fazla olanlar GSBL pozitif olarak değerlendirildi.

2.2.7. Tüm Genom Analizi

GSBL pozitif olan tek izolatın tüm genom analizi yapılmıştır. DNA ekstraksiyon işlemi, orofarengal, deri lezyonu ve nazofarengal örnekler üzerinde üreticinin talimatlarına göre EZ1&2™ Virus Mini Kit (Qiagen, Germany) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Ekstrakte edilen DNA, Qubit 4.0 Florometrede (Invitrogen, Singapur) dsDNA High-Sensistivity Assay kiti (Life Technologies, ABD) kullanılarak üreticinin talimatlarına uygun protokol izlenerek ölçülmüştür. DNA konsantrasyonu 0,440 ng/ul olarak bulunmuştur.

Kütüphaneyi hazırlamak için barkodlu dizileme kütüphanesi hazırlanmıştır ve Native Barcoding Genomic DNA kiti (SQK-LSK109) - Oxford Nanopore Technologies (ONT, UK) kullanılarak, 700 ng ekstrakte edilmiş DNA kullanılarak tüm genom dizilemesi yapılmıştır. Kütüphane, GridION cihazındaki (ONT, İngiltere) FLO-MIN106D akış hücrelerine yüklenmiştir.

Sekans verileri Flye, Blast + Minimap2 ve Geneious Prime gibi biyoinformatik araçlar kullanılarak analiz edilmiştir.



3. BULGULAR

3.1. *Escherichia coli* İzolatlarının Tanımlanması

Ankara ili Gölbaşı, Çubuk ve Haymana ilçelerinde bulunan çiftliklerden toplam 184 örnek toplanmış olup bunlardan 43 tanesi gaita örneği ve 141 tanesi toprak örneğidir. Alınan örneklerden Gölbaşı ilçesinde bulunan çiftliklerden toplam 79 örnek toplanmış olup bunların 61 tanesi toprak, 18 tanesi gaita örneğidir. Çubuk ilçesindeki çiftliklerden toplam 56 örneğin 41 tanesi toprak, 15 tanesi gaita örneğidir. Haymana ilçesinde bulunan çiftliklerden ise toplam 49 adet örnek toplandı ve 39 tanesi toprak, 10 tanesi gaita örneğidir. Toplanan örnek sayıları Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Örnekler laboratuvarında incelenerek MCA besiyerinde laktoz pozitif olan, EMB agarda belirgin metalik röfle veren ve *E. coli* agarda mavi renk oluşturan koloniler ayrılarak gram boyama yapıldı. Gram boyama sonucunda mikroskopta incelenen ve gram negatif basil olanlara IMVIC testi yapıp sonucu “+,+,-,-” şeklinde tespit edilen ve TSI besiyerinde laktoz olumlu olduğu tayin edilen koloniler *E. coli* olarak kabul edildi. Bu sonuçlar doğrultusunda 78 tanesi toprak ve 42 tanesi gaita olmak üzere toplam 120 örnekten *E. coli* izole edildi. Gaitalardan izole edilen *E. coli* sayıları Çizelge 3.2.'de verilmiştir. Daha sonra bu izolatların *E. coli* olduğu MALDI-TOF MS yöntemiyle doğrulandı. MALDI-TOF MS sonuçları Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. İlçelere göre toplanan örnek sayısı ve izole edilen *E. coli* sayısı

Çiftliklerin bulunduğu ilçeler	Alınan toprak örnek sayısı	Alınan gaita örnek sayısı	Toplam örnek sayısı	Toprak örneklerinde izole edilen <i>E. coli</i> sayısı	Gaita örneklerinden izole edilen <i>E.coli</i> sayısı	Toplam izole edilen <i>E.coli</i> sayısı
GÖLBAŞI	61	18	79	25	17	42
ÇUBUK	41	15	56	24	15	39
HAYMANA	39	10	49	29	10	39
TOPLAM	141	43	184	78	42	120

Çizelge 3.2. İlçelere göre gaita örneklerinden izole edilen *E. coli* sayısı

Çiftliklerin bulunduğu ilçeler	Büyükbaş Gaita örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> sayısı	Küçükbaş Gaita örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> sayısı	Kümes Hayvanları Gaita örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> sayısı
GÖLBAŞI	8	4	5
ÇUBUK	6	3	6
HAYMANA	3	4	3
TOPLAM	17	11	14

Çizelge 3.3. MALDI-TOF MS sonuçları

SIRA NO	ÖRNEK NO	Organizma (En iyi eşleşme)	PUAN DEĞERİ
1	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	2,292
2	G1	<i>Escherichia coli</i>	2,326
3	G2	<i>Escherichia coli</i>	2,102
4	G3	<i>Escherichia coli</i>	2,281
5	G5	<i>Escherichia coli</i>	2,125
6	G7	<i>Escherichia coli</i>	2,09
7	G9	<i>Escherichia coli</i>	2,271
8	G11	<i>Escherichia coli</i>	2,332
9	G15	<i>Escherichia coli</i>	2,203
10	G16	<i>Escherichia coli</i>	2,215
11	G19	<i>Escherichia coli</i>	2,331
12	G22	<i>Escherichia coli</i>	2,204
13	G23	<i>Escherichia coli</i>	2,213
14	G25	<i>Escherichia coli</i>	2,228
15	G29	<i>Escherichia coli</i>	2,229
16	G35	<i>Escherichia coli</i>	2,274
17	G39	<i>Escherichia coli</i>	2,268
18	G40	<i>Escherichia coli</i>	2,145

Çizelge 3.3. Devam MALDI-TOF MS sonuçları

SIRA NO	ÖRNEK NO	Organizma (En iyi eşleşme)	PUAN DEĞERİ
19	G42	<i>Escherichia coli</i>	2,213
20	G45	<i>Escherichia coli</i>	2,356
21	G46	<i>Escherichia coli</i>	1,953
22	G48	<i>Escherichia coli</i>	2,37
23	G51	<i>Escherichia coli</i>	2,309
24	G52	<i>Escherichia coli</i>	2,291
25	G54	<i>Escherichia coli</i>	2,357
26	G55	<i>Escherichia coli</i>	2,38
27	G56	<i>Escherichia coli</i>	2,122
28	G59	<i>Escherichia coli</i>	2,408
29	G60	<i>Escherichia coli</i>	2,359
30	G61	<i>Escherichia coli</i>	2,28
31	G62	<i>Escherichia coli</i>	2,203
32	G63	<i>Escherichia coli</i>	2,42
33	G64	<i>Escherichia coli</i>	2,351
34	G65	<i>Escherichia coli</i>	2,381
35	G66	<i>Escherichia coli</i>	2,251
36	G67	<i>Escherichia coli</i>	2,397
37	G68	<i>Escherichia coli</i>	2,345
38	G69	<i>Escherichia coli</i>	2,218
39	G71	<i>Escherichia coli</i>	2,233
40	G73	<i>Escherichia coli</i>	2,223
41	G75	<i>Escherichia coli</i>	2,155
42	G76	<i>Escherichia coli</i>	2,076

Çizelge 3.3. Devam MALDI-TOF MS sonuçları

SIRA NO	ÖRNEK NO	Organizma (En iyi eşleşme)	PUAN DEĞERİ
43	G78	<i>Escherichia coli</i>	2,274
44	C1	<i>Escherichia coli</i>	2,13
45	C7	<i>Escherichia coli</i>	2,066
46	C8	<i>Escherichia coli</i>	2,325
47	C9	<i>Escherichia coli</i>	2,11
48	C14	<i>Escherichia coli</i>	2,302
49	C16	<i>Escherichia coli</i>	2,263
50	C17	<i>Escherichia coli</i>	2,478
51	C19	<i>Escherichia coli</i>	2,241
52	C21	<i>Escherichia coli</i>	2,294
53	C22	<i>Escherichia coli</i>	2,235
54	C25	<i>Escherichia coli</i>	2,358
55	C26	<i>Escherichia coli</i>	2,278
56	C27	<i>Escherichia coli</i>	2,249
57	C28	<i>Escherichia coli</i>	2,35
58	C29	<i>Escherichia coli</i>	2,141
59	C30	<i>Escherichia coli</i>	1,984
60	C31	<i>Escherichia coli</i>	2,135
61	C33	<i>Escherichia coli</i>	2,307
62	C34	<i>Escherichia coli</i>	2,099
63	C35	<i>Escherichia coli</i>	2,129
64	C36	<i>Escherichia coli</i>	2,089
65	C37	<i>Escherichia coli</i>	2,246
66	C38	<i>Escherichia coli</i>	2,149

Çizelge 3.3. Devam MALDI-TOF MS sonuçları

SIRA NO	ÖRNEK NO	Organizma (En iyi eşleşme)	PUAN DEĞERİ
67	C39	<i>Escherichia coli</i>	2,16
68	C40	<i>Escherichia coli</i>	2,203
69	C41	<i>Escherichia coli</i>	2,084
70	C42	<i>Escherichia coli</i>	2,246
71	C43	<i>Escherichia coli</i>	2,225
72	C44	<i>Escherichia coli</i>	2,306
73	C45	<i>Escherichia coli</i>	2,144
74	C47	<i>Escherichia coli</i>	2,271
75	C48	<i>Escherichia coli</i>	2,074
76	C49	<i>Escherichia coli</i>	2,343
77	C50	<i>Escherichia coli</i>	2,297
78	C51	<i>Escherichia coli</i>	2,107
79	C52	<i>Escherichia coli</i>	2,2,234
80	C53	<i>Escherichia coli</i>	2,322
81	C54	<i>Escherichia coli</i>	2,358
82	C56	<i>Escherichia coli</i>	2,388
83	H1	<i>Escherichia coli</i>	2,182
84	H2	<i>Escherichia coli</i>	2,285
85	H3	<i>Escherichia coli</i>	2,115
86	H4	<i>Escherichia coli</i>	2,139
87	H5	<i>Escherichia coli</i>	2,312
88	H6	<i>Escherichia coli</i>	2,391
89	H7	<i>Escherichia coli</i>	2,228
90	H8	<i>Escherichia coli</i>	2,099

Çizelge 3.3. Devam MALDI-TOF MS sonuçları

SIRA NO	ÖRNEK NO	Organizma (En iyi eşleşme)	PUAN DEĞERİ
91	H9	<i>Escherichia coli</i>	2,14
92	H10	<i>Escherichia coli</i>	2,381
93	H12	<i>Escherichia coli</i>	2,199
94	H14	<i>Escherichia coli</i>	2,145
95	H17	<i>Escherichia coli</i>	2,476
96	H20	<i>Escherichia coli</i>	2,218
97	H22	<i>Escherichia coli</i>	2,205
98	H23	<i>Escherichia coli</i>	2,418
99	H24	<i>Escherichia coli</i>	2,358
100	H25	<i>Escherichia coli</i>	2,217
101	H27	<i>Escherichia coli</i>	2,278
102	H28	<i>Escherichia coli</i>	2,364
103	H29	<i>Escherichia coli</i>	2,503
104	H31	<i>Escherichia coli</i>	2,359
105	H32	<i>Escherichia coli</i>	2,353
106	H33	<i>Escherichia coli</i>	2,319
107	H34	<i>Escherichia coli</i>	2,309
108	H35	<i>Escherichia coli</i>	2,393
109	H36	<i>Escherichia coli</i>	2,363
110	H37	<i>Escherichia coli</i>	2,328
111	H38	<i>Escherichia coli</i>	2,337
112	H39	<i>Escherichia coli</i>	2,309
113	H40	<i>Escherichia coli</i>	2,142
114	H41	<i>Escherichia coli</i>	2,244

Çizelge 3.3. Devam MALDI-TOF MS sonuçları

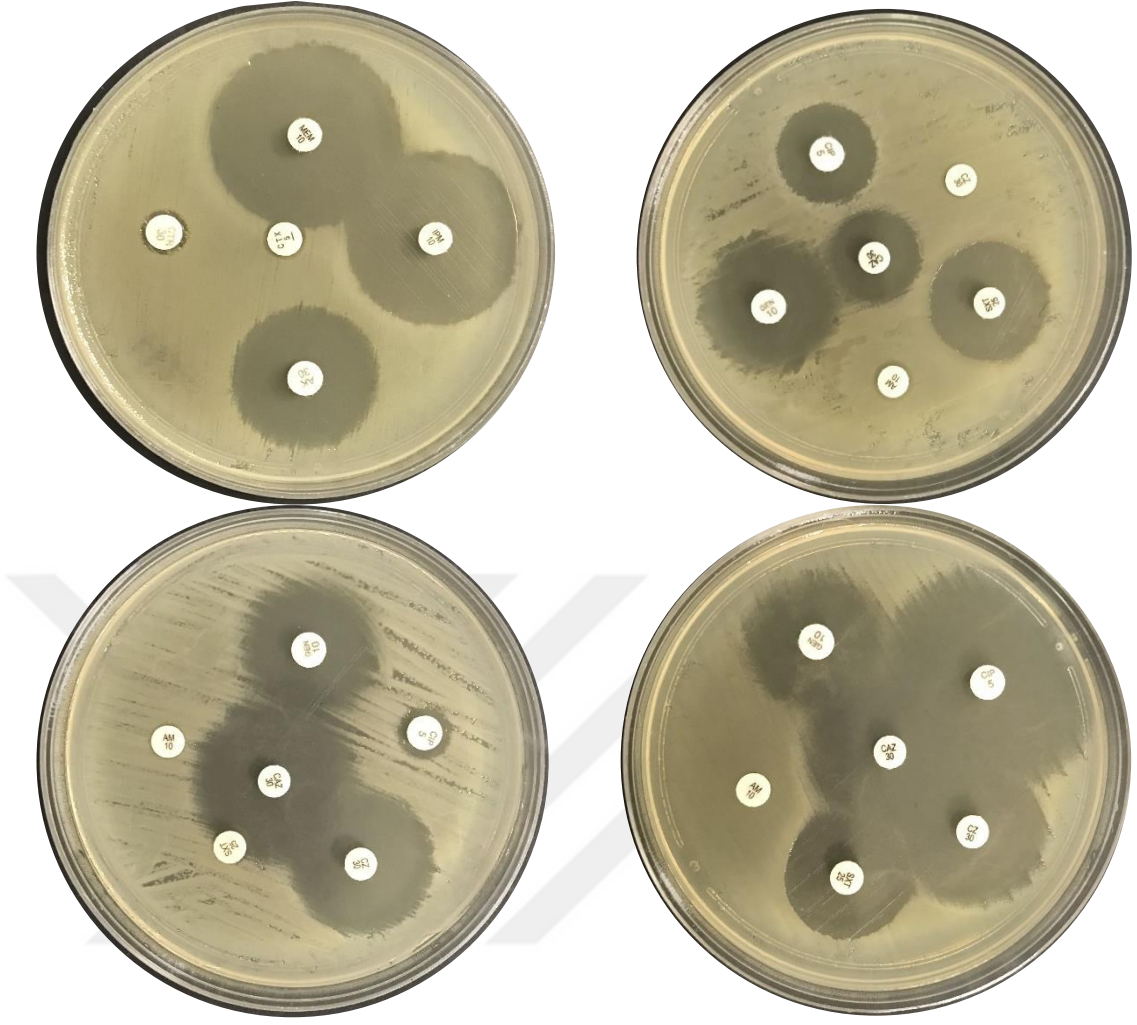
SIRA NO	ÖRNEK NO	Organizma (En iyi eşleşme)	PUAN DEĞERİ
115	H42	<i>Escherichia coli</i>	2,375
116	H43	<i>Escherichia coli</i>	2,041
117	H44	<i>Escherichia coli</i>	2,365
118	H45	<i>Escherichia coli</i>	2,193
119	H46	<i>Escherichia coli</i>	2,161
120	H47	<i>Escherichia coli</i>	2,28
121	H48	<i>Escherichia coli</i>	2,277

3.2. *Escherichia coli* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

Çalışma sonucunda 120 adet *E. coli*'nin antibiyotik duyarlılık testi sonucunda ampisilin %12,5 (15), trimetoprim/sulfametaksazol %6,6 (8), sefazolin %0,83 (1), siproflaksasin %2,5 (3), seftazidim %0,83 (1), sefotaksim %1,6 (2) ve seftriakson %1,6 (2) oranında dirençli olduğu bulundu. Bakterilerin %100 (120) gentamisin, amikasin, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı bulundu. Çizelge 3.4.'de antibiyotik duyarlılık sonuçları verilmiştir. *E. coli* izolatlarının toplam direnç oranları Çizelge 3.5.'de verilmiştir. İzole edilen her bakterinin antibiyotik duyarlılıkları Çizelge 3.6' da verilmiştir.

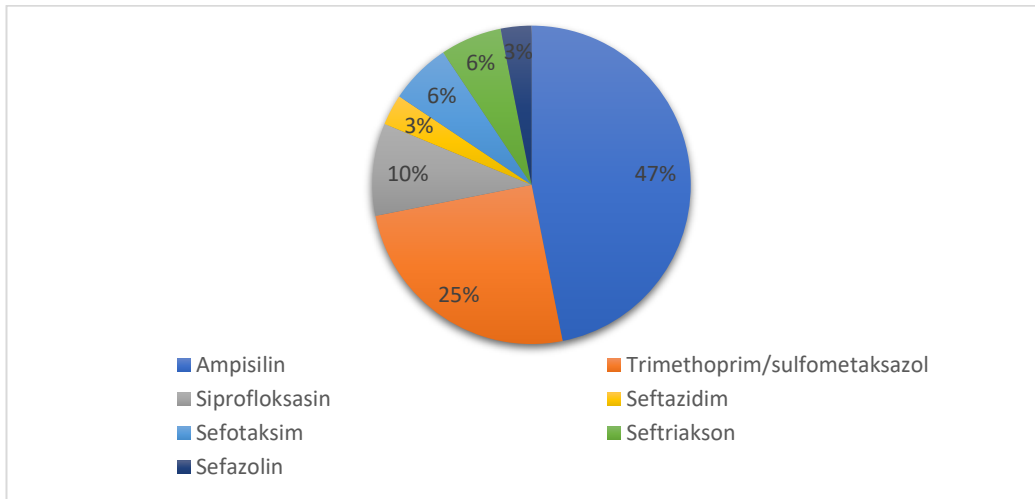
Çizelge 3.4. *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	Dirençli (%)	Orta duyarlı(%)	Duyarlı (%)
Ampisilin	15 (12,5)	-	105 (87,5)
Trimethoprim/sulfometaksazol	8 (6,6)	1 (0,83)	111 (92,5)
Sefazolin	1 (0,83)	119 (99,1)	-
Siprofloksasin	3(2,5)	-	117 (97,5)
Gentamisin	-	-	120 (100)
Seftazidim	1(0,83)	-	119 (99,1)
Sefotaksim	2 (1,6)	-	118 (98,3)
Seftriakson	2 (1,6)	-	118 (98,3)
Amikasin	-	-	120 (100)
İmipenem	-	-	120 (100)
Meropenem	-	-	120 (100)



Şekil 3.1. MHA besiyerinde disk difüzyon yöntemi

Çizelge 3.5. Toplam direnç oranları



Çizelge 3.6. *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AM	SXT	CZ	CIP	GEN	CAZ	CTX	CTR	AK	IPM	MEM
G1	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G2	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G3	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G5	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G7	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G9	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G11	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G15	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G16	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G19	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G22	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G23	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G25	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G29	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G35	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G39	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G40	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G42	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S

Çizelge 3.6. Devam *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AM	SXT	CZ	CIP	GEN	CAZ	CTX	CTR	AK	IPM	MEM
G45	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G46	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G48	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G51	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G52	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G54	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G55	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G56	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G59	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G60	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G61	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G62	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G63	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G64	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G65	S	S	I	S	S	S	R	R	S	S	S
G66	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G67	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G68	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G69	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S

Çizelge 3.6. Devam *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AM	SXT	CZ	CIP	GEN	CAZ	CTX	CTR	AK	IPM	MEM
G71	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G73	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G75	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G76	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
G78	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C1	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C7	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C8	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C9	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C14	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C16	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C17	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C19	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C21	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C22	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C25	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C26	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C27	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C28	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S

Çizelge 3.6. Devam *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AM	SXT	CZ	CIP	GEN	CAZ	CTX	CTR	AK	IPM	MEM
C29	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C30	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C31	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C33	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C34	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C35	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C36	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C37	R	I	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C38	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C39	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C40	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C41	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C42	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C43	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C44	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C45	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C47	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C48	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C49	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S

Çizelge 3.6. Devam *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AM	SXT	CZ	CIP	GEN	CAZ	CTX	CTR	AK	IPM	MEM
C50	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C51	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C52	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C53	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C54	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
C56	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H1	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H2	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S
H3	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H4	R	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S
H5	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H6	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H7	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H8	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H9	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H10	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H12	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H14	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H17	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S

Çizelge 3.6. Devam *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AM	SXT	CZ	CIP	GEN	CAZ	CTX	CTR	AK	IPM	MEM
H20	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H22	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H23	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H24	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H25	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H27	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H28	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H29	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H31	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H32	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H33	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H34	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H35	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H36	R	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S
H37	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H38	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H39	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H40	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H41	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S

Çizelge 3.6. Devam *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

	AM	SXT	CZ	CIP	GEN	CAZ	CTX	CTR	AK	IPM	MEM
H42	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H43	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H44	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H45	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H46	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H47	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
H49	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S

S: Duyarlı

AM: Ampisilin

GEN: Gentamisin

AK: Amikasin

I: Orta Duyarlı

SXT: Trimethoprim/sulfometaksazol

CAZ: Seftazidim

IPM: İmipenem

R: Dirençli

CZ: Sefazolin

CTX: Sefotaksim

MEM: Meropenem

CIP: Siprofloksasin

CTR: Seftriakson

3.3. GSBL Sonuçları

Disk difüzyon testi ile belirlenen antibiyotik duyarlılıklarına göre elde edilen sonuçlar doğrultusunda, seftazidim ya da sefotaksim antibiyotiklerinden birine veya her ikisine de dirençli olan izolatlarda GSBL varlığı belirlemek için yapılan ÇDST sonucunda sadece H2 (Haymana ilçesinden topraktan izole edilmiştir.) izolatı pozitif olarak bulunmuştur (Şekil3.2.).



Şekil 3.2. GSBL pozitif izolat (H2)



Şekil 3.3. GSBL pozitif kontrol

Çift disk sinerji testi sonucunda GSBL varlığı belirsiz olan izolatlara kombine disk yöntemi uygulandı. Kombine disk yöntemi sonucunda GSBL pozitif izolat bulunamadı. Şekil 3.4. negatif sonuç gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Kombine disk yöntemi GSBL negatif

3.4. Tüm Genom Sekanslama Analiz Sonucu

Oxford Nanopore Teknolojileri ile sekanslanmış olan bakteriyel tüm genom örneğinden toplamda 166.700 adet okuma elde edilmiştir. Alınan okumalar, NCBI’da bulunan *E. coli* referans genomlarına, Geneious Prime® (v2022.2.2) uygulaması kullanılarak uzun okumalar için hizalama aracı olan Minimap2 ile hizalandı. Hizalama sonucunda örnekten elde edilen okumaların en iyi *Escherichia coli str. K-12* (NCBI GenBank ID: NC_000913.3) suşuna hizalandığı görülmüştür. Okumaların referans genomu kapsama oranı %93,1, referans genom ile ikili benzerlik oranı %88,8 ve ortalama kapsam değerinin 153X olduğu görülmüştür. Ayrıca bazların referans genoma göre ikili benzerlik oranı ise %78,3 olarak bulunmuştur. Şekil 3.5.’de hizalama görüntüsünde mavi renkteki kısımlar genomun okuma alınan yerlerinin yoğunluğunu, kapsamını göstermektedir, hizalanan okumalar çok fazla sayıda olduğu için görselde gösterilememektedir. Virülans faktörleri Çizelge 3.7.’da verilmiştir.



Şekil 3.5. H2 izolatının, *Escherichia coli str. K-12* (NCBI GenBank ID: NC_000913.3) referans genomuna hizalanması sonucu genomun kapsam görüntüsü

Çizelge 3.7. H2 izolatının virülans faktörleri

Virülans Faktörler	İlişkili Genler	ORF	Fonksiyonu
Kıvrımlı lifler	<i>cgsD</i>	orf01073	-
Kıvrımlı lifler	<i>cgsF</i>	orf01070	-
Kıvrımlı lifler	<i>cgsG</i>	orf01069	-
Kıvrımlı lifler	<i>cgsA</i>	orf01076	-
Kıvrımlı lifler	<i>cgsB</i>	orf01075	-
Kıvrımlı lifler	<i>cgsC</i>	orf01077	-

Çizelge 3.7. Devam H2 izolatının virülans faktörleri

Virülans Faktörler	İlişkili Genler	ORF	Fonksiyonu
<i>E. coli</i> ortak pilusu (ECP)	<i>ecpA</i>	orf00299	ECP, 21-kDa pilin alt birimi EspA'dan oluşur, insanlarda <i>E. coli</i> O157'nin virülansı için çok önemli olan bir pilus-adherans faktörüdür, ve ayrıca <i>E. coli</i> 'nin kommensal suşları tarafından da taşınır. Patojenik <i>E. coli</i> suşlarının ECP'yi kommensal <i>E. coli</i> 'yi taklit etmek için kullanabileceği ve konak kolonizasyonu ve bağışıklık sisteminden kaçmak için kendilerine ekolojik bir avantaj sağlayabileceği öne sürülmektedir.
<i>E. coli</i> ortak pilusu (ECP)	<i>ecpC</i>	orf00296 orf00297	ECP, 21-kDa pilin alt birimi EspA'dan oluşur, insanlarda <i>E. coli</i> O157'nin virülansı için çok önemli olan bir pilus-adherans faktörüdür, ve ayrıca <i>E. coli</i> 'nin kommensal suşları tarafından da taşınır. Patojenik <i>E. coli</i> suşlarının ECP'yi kommensal <i>E. coli</i> 'yi taklit etmek için kullanabileceği ve konak kolonizasyonu ve bağışıklık sisteminden kaçmak için kendilerine ekolojik bir avantaj sağlayabileceği öne sürülmektedir.

Çizelge 3.7. Devam H2 izolatının virülans faktörleri

Virülans Faktörler	İlişkili Genler	ORF	Fonksiyonu
<i>E. coli</i> ortak pilusu (ECP)	<i>ecpD</i>	orf00295	ECP, 21-kDa pilin alt birimi EspA'dan oluşur, insanlarda <i>E. coli</i> o157'nin virülansı için çok önemli olan bir pilus-adherans faktörüdür, ve ayrıca <i>E. coli</i> 'nin kommensal suşları tarafından da taşınır. Patojenik <i>E. coli</i> suşlarının ECP'yi kommensal <i>E. coli</i> 'yi taklit etmek için kullanabileceği ve konak kolonizasyonu ve bağışıklık sisteminden kaçmak için kendilerine ekolojik bir avantaj sağlayabileceği öne sürülmektedir.
<i>E. coli</i> ortak pilusu (ECP)	<i>ecpE</i>	orf00294	ECP, 21-kDa pilin alt birimi EspA'dan oluşur, insanlarda <i>E. coli</i> o157'nin virülansı için çok önemli olan bir pilus-adherans faktörüdür, ve ayrıca <i>E. coli</i> 'nin kommensal suşları tarafından da taşınır. Patojenik <i>E. coli</i> suşlarının ECP'yi kommensal <i>E. coli</i> 'yi taklit etmek için kullanabileceği ve konak kolonizasyonu ve bağışıklık sisteminden kaçmak için kendilerine ekolojik bir avantaj sağlayabileceği öne sürülmektedir.

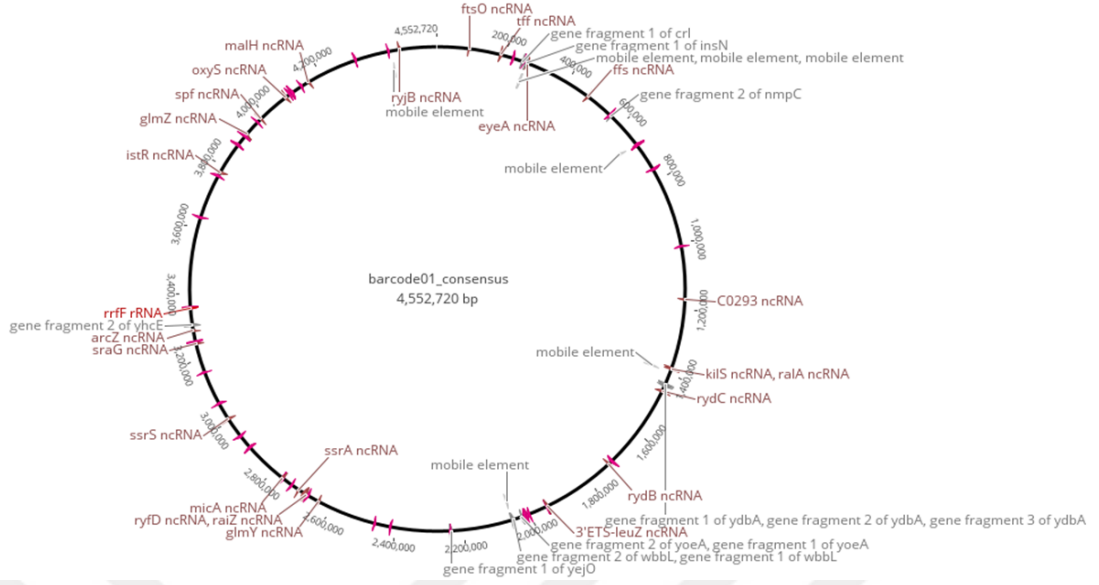
Çizelge 3.7. Devam H2 izolatının virülans faktörleri

Virülans Faktörler	İlişkili Genler	ORF	Fonksiyonu
<i>E. coli</i> ortak pilusu (ECP)	<i>ecpR</i>	orf00300	ECP, 21-kDa pilin alt birimi EspA'dan oluşur, insanlarda <i>E. coli</i> o157'nin virülansı için çok önemli olan bir pilus-adherans faktörüdür, ve ayrıca <i>E. coli</i> 'nin kommensal suşları tarafından da taşınır. Patojenik <i>E. coli</i> suşlarının ECP'yi kommensal <i>E. coli</i> 'yi taklit etmek için kullanabileceği ve konak kolonizasyonu ve bağışıklık sisteminden kaçmak için kendilerine ekolojik bir avantaj sağlayabileceği öne sürülmektedir.
<i>E. coli</i> laminin bağlayıcı fimbria (ELF)	<i>elfA</i>	orf00970	-
<i>E. coli</i> laminin bağlayıcı fimbria (ELF)	<i>elfG</i>	orf00975	-
Hemorajik <i>E. coli</i> pilusu (HCP)	<i>hcpA</i>	orf00106	-
Hemorajik <i>E. coli</i> pilusu (HCP)	<i>hcpB</i>	orf00105	-
Hemorajik <i>E. coli</i> pilusu (HCP)	<i>hcpC</i>	orf00104	-
Tip I fimbria	<i>fimB</i>	orf04560	Kolonizasyonu kolaylaştırır
Tip I fimbria	<i>fimC</i>	orf04565	Kolonizasyonu kolaylaştırır
Tip I fimbria	<i>fimD</i>	orf00142 orf00547 orf01581 orf02231 orf03327 orf04566	Kolonizasyonu kolaylaştırır
Tip I fimbria	<i>fimE</i>	orf04561	Kolonizasyonu kolaylaştırır
Tip I fimbria	<i>fimF</i>	orf01580 orf04567	Kolonizasyonu kolaylaştırır
Tip I fimbria	<i>fimG</i>	orf01579 orf04568	Kolonizasyonu kolaylaştırır

Çizelge 3.7. Devam H2 izolatının virülans faktörleri

Virülans Faktörler	İlişkili Genler	ORF	Fonksiyonu
Tip I fimbria	<i>fimH</i>	orf04569	Kolonizasyonu kolaylaştırır
Tip I fimbria	<i>fimI</i>	orf04563	Kolonizasyonu kolaylaştırır
Beyin endotel hücrelerinin istilasası (Ibes)	<i>ibeB</i>	orf00582	Beyin mikrovasküler endotel hücrelerinin (BMECs) istilasına katkıda bulunur
Beyin endotel hücrelerinin istilasası (Ibes)	<i>ibeC</i>	orf04184	Beyin mikrovasküler endotel hücrelerinin (BMECs) istilasına katkıda bulunur
Salmochelin siderophore	<i>iroN</i>	orf00597	Demir alımı
EspL1	<i>espL1</i>	orf01820	-
EspL4	<i>espL4</i>	orf04238	-
EspR1	<i>espR1</i>	orf01542	-
EspX4	<i>espX4</i>	orf04261	-
LEE kodlanmış lokus TTSS	<i>escV</i>	orf02002	-
Kapsül biyosentezi ve taşınması (Campylobacter)	<i>glf</i>	orf02154	37 kDa dış membran proteini, organizmanın hücre dışı matris bileşeni fibronektine bağlanmasına aracılık eder ve bu da bir sinyal iletim yolunu uyarır
Stj (Salmonella)	<i>stjC</i>	orf03398	-

Şekil 3.6.'de "Barcode01" örneğinin, *Escherichia coli str. K-12 (NCBI GenBank ID: NC_000913.3)* referans genomuna hizalanması sonucunda oluşturulan doğrusal konsensus genomun anote edilip ve halkasal genom haline getirilmiş görseli bulunmaktadır.



Şekil 3.6. H2 örneğinin, *Escherichia coli str. K-12* (NCBI GenBank ID: NC_000913.3) referans genomuna hizalanması sonucunda elde edilen konsensus genomun dairesel gösterimi

Escherichia coli str. K-12 alt türüne hizalanması sonucunda oluşturulan konsensus tüm genom dizisi ARDB veri tabanı kullanılarak RGI algoritması ile analiz edildi ve antimikrobiyal direnci ile ilgili genler bulundu. AMR gen ailesi, ilaç sınıfı, direnç mekanizmaları ve Eşleşen Bölgenin Benzerlik Yüzdesi Çizelge 3.8’de yer almaktadır.

Çizelge 3.8. H2 örneğinde bulunan antibiyotik direnç genleri

En iyi isabet ARO	En İyi Identities	İlaç sınıfı	Direnç Mekanizması	AMR Gen Ailesi	Referans Dizinin Yüzde Uzunluğu
<i>Escherichia coli acrA</i>	99.75	Florokinolon antibiyotik; sefalosporin; glisilsiklin; penam; tetrasiklin antibiyotik; rifamisin antibiyotik; fenikol antibiyotik; dezenfekte edici maddeler ve antiseptik	antibiyotik efflux	direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100

Çizelge 3.8. Devam H2 örneğinde bulunan antibiyotik direnç genleri

En iyi isabet ARO	En İyi Identities	İlaç sınıfı	Direnç Mekanizması	AMR Gen Ailesi	Referans Dizinin Yüzde Uzunluğu
<i>Escherichia coli emrE</i>	100	makrolid antibiyotik	antibiyotik efflux	Küçük çoklu ilaç direnci (SMR) antibiyotik efflux pompası	100
<i>kdpE</i>	99.56	aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik efflux	kdpDE	100
<i>Escherichia coli mdfA</i>	96.59	tetrasiklin antibiyotik; dezenfekte edici ve maddeler ve antiseptik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	100
<i>msbA</i>	99.66	nitroimidazol antibiyotik	antibiyotik efflux	ATP-bağlayıcı kaset (ABC) antibiyotik efflux pompası	100
<i>mdtG</i>	100	fosfonik asit antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	100
<i>mdtH</i>	99.75	Florokinolon antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	100
H-NS	100	Makrolid antibiyotik; florokinolon antibiyotik; sefalosporin; sefamisin; penam; tetrasiklin antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası; direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100

Çizelge 3.8. Devam H2 örneğinde bulunan antibiyotik direnç genleri

En iyi isabet ARO	En İyi Identities	İlaç sınıfı	Direnç Mekanizması	AMR Gen Ailesi	Referans Dizin Yüzde Uzunluğu
<i>marA</i>	100	florokinolon antibiyotik; monobaktam; karbapenem; sefalosporin; glisilsikline; sefamisin; penam; tetrasiklin antibiyotik; rifamisin antibiyotik; fenikol antibiyotik; penem; dezenfekte edici maddeler ve antiseptik	antibiyotik efflux; antibiyotiğe karşı azaltılmış geçirgenlik	direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası; Beta-laktamlara karşı azaltılmış geçirgenliğe sahip Genel Bakteriye Porin	100
<i>mdtA</i>	98.8	aminocoumarin antibiyotik	antibiyotik efflux	direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100
<i>mdtB</i>	99.71	aminocoumarin antibiyotik	antibiyotik efflux	direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100
<i>mdtC</i>	99.71	aminocoumarin antibiyotik	antibiyotik efflux	direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100
<i>baeS</i>	99.36	aminoglikozid antibiyotik; aminocoumarin antibiyotik	antibiyotik efflux	direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100
<i>baeR</i>	100	Aminoglikozid antibiyotik; aminocoumarin antibiyotik	antibiyotik efflux	direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100
<i>YojI</i>	99.27	peptit antibiyotik	antibiyotik efflux	ATP-bağlayıcı kaset (ABC) antibiyotik efflux pompası	100

Çizelge 3.8. Devam H2 örneğinde bulunan antibiyotik direnç genleri

En iyi isabet ARO	En İyi Identities	İlaç sınıfı	Direnç Mekanizması	AMR Gen Ailesi	Referans Dizinin Yüzde Uzunluğu
<i>PmrF</i>	99.38	peptit antibiyotik	antibiyotik hedef değişikliği	pmr fosfoetanolamin transferaz	100
<i>emrY</i>	99.61	Tetrasiklin antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	100
<i>emrK</i>	99.43	tetrasiklin antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	110.26
<i>evgA</i>	100	makrolid antibiyotik; florokinolon antibiyotik; penam; tetrasiklin antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası; direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100
<i>evgS</i>	96.74	Makrolid antibiyotik; florokinolon antibiyotik; penam; tetrasikline antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası; direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi (RND) antibiyotik efflux pompası	100

H2 örneğinin içerisindeki plazmidler ve bu plazmidlerin sahip olduğu antimikrobiyal direnç genlerinin taranması için H2 içerisindeki sekanslar plazmid veri tabanında aratıldı. Çizelge 3.9.'da bulunan plazmidleri ve plazmidlere ait antimikrobiyal direnç genlerini göstermektedir.

Çizelge 3.9. H2 örneğinde bulunan plazmidlere ait antimikrobiyal direnç genleri

Plasmid ID	En İyi İsalet ARO	En İyi Kimlikler	İlaç Sınıfı	Direnç Mekanizması	AMR Ailesi	Gen	Referans Dizinin Yüzde Uzunluğu
NZ_KR82 7684	<i>tet(B)</i>	99.25	tetrasiklin antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası		100
	<i>dfrA12</i>	100	Diaminoirimidin antibiyotik	antibiyotik hedef değişimi	trimethoprim dirençli dihidrofolat redüktaz dfr		100
	<i>aadA2</i>	100	Aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	ANT(3")		100
	<i>cmlA1</i>	99.76	fenikol antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası		100
	<i>qacL</i>	93.64	Dezenfekte edici maddeler ve antiseptikler	antibiyotik efflux	Küçük çoklu ilaç direnci (SMR) antibiyotik efflux pompası		100
	<i>sul3</i>	100	Sulfonamid antibiyotik	antibiyotik hedef değiştirme	Sulfonamid dirençli sul		100
NZ_CP010 149	<i>sul2</i>	100	sulfonamide antibiotic	antibiyotik hedef değiştirme	Sulfonamid dirençli sul		100
	APH(3")-Ib	99.63	Aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	APH(3")		100
	APH(6)-Id	99.28	Aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	APH(6)		100

Çizelge 3.9. Devam H2 örneğinde bulunan plazmidlere ait antimikrobiyal direnç genleri

Plasmid ID	En İyi İsalet ARO	En İyi Kimlikler	İlaç Sınıfı	Direnç Mekanizması	AMR Gen Ailesi	Referans Dizinin Yüzde Uzunluğu
NZ_CP010149	<i>tet(A)</i>	98.23	tetrasiklin antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	94.1
	CTX-M-14	100	sefalosporin	antibiyotik inaktivasyonu	CTX-M beta-laktamaz	100
	TEM-1	100	monobaktam ;sefalosporin ;penam; penem	antibiyotik inaktivasyonu	TEM beta-laktamaz	100
	AAC(3)-IId	100	Aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	AAC(3)	100
	<i>dfrA17</i>	99.36	Diaminopirimidin antibiyotik	antibiyotik hedef değiştirme	trimethoprim dirençli dihidrofolat redüktaz dfr	126.75
	<i>aadA5</i>	100	Aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	ANT(3")	100
	<i>qacEdelta1</i>	100	Dezenfektan edici maddeler ve antiseptikler	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	100
	<i>sul1</i>	100	sulfonamid antibiyotik	antibiyotik hedef değiştirme	sulfonamid dirençli sul	100
	<i>mphA</i>	100	makrolid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	makrolid fosfotransferaz (MPH)	100

Çizelge 3.9. Devam H2 örneğinde bulunan plazmidlere ait antimikrobiyal direnç genleri

Plasmid ID	En İyi İsalet ARO	En İyi Kimlikler	İlaç Sınıfı	Direnç Mekanizması	AMR Gen Ailesi	Referans Dizinin Yüzde Uzunluğu
NZ_CP010 149	<i>sul2</i>	100	sulfonamid antibiyotik	antibiyotik hedef değiştirme	sulfonamid dirençli sul	100
	APH(3")-Ib	99.63	Aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	APH(3")	100
	APH(6)-Id	99.28	Aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	APH(6)	100
	<i>tet(A)</i>	98.23	tetrasiklin antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	94.1
	<i>sul3</i>	100	Sulfonamid antibiyotik	antibiyotik hedef değiştirme	sulfonamide dirençli sul	100
	<i>qacL</i>	93.64	Dezenfekte edici maddeler ve antiseptikler	antibiyotik efflux	Küçük çoklu ilaç direnci (SMR) antibiyotik efflux pompası	100
	<i>cmlA1</i>	99.76	fenikol antibiyotik	antibiyotik efflux	major facilitator superfamily (MFS) antibiyotik efflux pompası	100
	<i>aadA2</i>	100	Aminoglikozid antibiyotik	antibiyotik inaktivasyonu	ANT(3")	100
	<i>dfrA12</i>	100	Diaminopirimidin antibiyotik	antibiyotik hedef değiştirme	trimethoprim dirençli dihidrofolat redüktaz dfr	100

4. TARTIŞMA

Antimikrobiyal direnç, yüksek morbidite ve mortaliteyle ilişkili olup dünya çapında önemli bir sorundur. Önemli patojenlerin yaygın antimikrobiyal tedavilere karşı direnç göstermesi ve çoklu ilaca direncin gelişmesi endişe kaynağıdır (Frieri vd., 2017).

Antibiyotik direnci hem insan hem de hayvan sağlığı için önemli tehdit unsurudur. Dünyada üretilen antibiyotikler insan tıbbında kullanılmasının yanında büyük çoğunluğu veteriner tıbbında ve hayvan yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır. Çiftlik hayvanları ve su ürünleri yetiştiriciliğinde enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisinde kullanıldığı kadar büyümeyi destekleyici olarak da antibiyotik kullanımı söz konusudur. Büyüme faktörü olarak kullanımları antibiyotik direncinin yayılmasında önemli bir etken olarak görüldüğünden Türkiye’ de 2006’ dan itibaren bu amaçla kullanımları yasaklanmıştır. İnsanlarda ve hayvanlarda tedavi amacı ile kullanılan antibiyotik sınıfları benzerlik göstermektedir, bu nedenle antibiyotik dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılımları artmaktadır (Filazi vd., 2015; Roca vd., 2015; Süleymanoğlu vd., 2022; Töreci, 2003).

Antibiyotik dirençli bakteriler, toprakta, suda, insan veya hayvan gaitasında bulunabilir. Antibiyotik dirençli mikroorganizmalar ile doğrudan temas ve gıda zinciri yoluyla veya dolaylı olarak çiftlik atıklarının çevre kirliliği yoluyla insanlara yayılabilmektedir. Hayvanlar kesim sırasında dışkı ile kontamine olabilir ya da kontamine olmuş sular tarımsal ürünlerin yetiştiriciliğinde kullanılabilir. Diğer bir risk ise gıdalara çapraz bulaşma ile antimikrobiyal dirençli bakterilerin veya antimikrobiyal direnç genlerinin bulaşmasıdır. (Roca vd., 2015; Verraes vd., 2013).

Antibiyotik direnci konusunda önemli bir konuda GSBL’ dir. GSBL pozitif olan bakteriler aynı zamanda çoklu ilaç direnci de göstermektedirler. CDC, GSBL pozitif olan Gram negatif basillerin sağlık için önemli bir tehdit olduğunu söylemektedir. Ayrıca GSBL, Tek Sağlık yaklaşımı ile incelenmelidir (Süleymanoğlu vd., 2022).

Çalışmamızda Eylül-Ekim 2022 tarihleri arasında Ankara ilinin Gölbaşı, Çubuk ve Haymana ilçelerinde bulunan çiftliklerden toprak örnekleri ve büyükbaş, küçükbaş ve kümes hayvanlarının gaita örnekleri olmak üzere toplamda 184 örnek alınmıştır. Toplanan bu örnekler seçici ve ayırt edici besiyerlerinde üretildikten sonra biyokimyasal testler (Gram boyama, indol, metil red- Voges Proskauer, sitrat ve üç şekerli demir besiyeri (TSI) testleri)

uygulanmıştır ve 120 (%65,2) tane *E. coli* izole edilmiştir. Daha sonra bu izolatlar MALDI TOF MS yöntemi ile doğrulanmıştır. Literatürde çeşitli kaynaklardan *E. coli* izolasyonu ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Debbarma vd. (2020) sığır, domuz ve kümes hayvanları olmak üzere 3 gıda hayvanı kategorisinden 245 gaita (52 tanesi diyareli) ve 175 et örneği olmak üzere toplam 420 örnek toplayarak 66 (%15,71) örnekte *E. coli* izole etmiştir. Dutta vd. (2013) salatada çiğ olarak tüketilen sebzeler üzerine bir çalışma yapmıştır. Yerel perakende satış mağazalarından toplam 80 adet örnek almış ve inceleme sonucunda 43 (%53,75) örnekte *E. coli* izole etmiştir. Mukuna vd. (2023) büyükbaş ve keçi çiftliklerinden toplam 285 çevresel (gübre, toprak ve su) örnekten 113 (%76,4) *E. coli* izole etmiştir. Marijani (2022) Tanzania’da yaptığı çalışmada açık hava balık pazarından ve süpermarketlerden alınan 92 adet taze balık örneğini incelemiştir. 7 farklı bakteri türü tanımlamış ve en yaygın olan tür 36 (%39) ile *E. coli* olmuştur.

Çalışmamızda toprak ve gaita örneklerinden izole ettiğimiz 120 tane *E. coli* izolatın 11 çeşit antibiyotik için duyarlılık testleri yapılmıştır. Yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda direnç oranları; ampisilin %12,5 (15), trimthoprim/sulfometaksazol %6,6 (8), sefazolin %0,83 (1), siprofloksasin %2,5 (3), seftazidim %0,83 (1), sefotaksim %1,6 (2), seftriakson %1,6 (2) bulunmuştur. Gentamisin, amikasin, imipenem ve meropenem antibiyotiklerinde dirence rastlanmamıştır. En yüksek orta duyarlılık oranı ise sefazolin %99,1 (119) antibiyotiğine karşı bulunmuştur. Ayrıca toplamda 17 adet *E. coli*’de dirence rastlanmıştır. Bunlardan 12 tanesi topraktan, 5 tanesi ise gaita örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarıdır.

Sonola vd. (2021) Tanzania’da tavuklardan (236), insanlardan (243), kemirgenlerden (101) ve topraktan (290) olmak üzere toplam 960 örnek toplamışlar ve bu örneklerin 650’sinde (%67,7) *E. coli* tespit etmişlerdir. İzolatların antibiyotik direnç oranları; imipenem (%79,8), sefotaksim (%79,7), tetrasiklin (%73,7), amoksisilin/klavulanat (%49,4), siprofloksasin (%40,2) ve gentamisin (%9,7) bulunmuştur. Ayrıca tüm izolatların %78,8’inde çoklu ilaca direnç söz konusudur.

Taniş vd. (2021), Kahramanmaraş’ta bulunan market ve pazarlardan lor peyniri örnekleri satan almış ve bu örneklerden 74 adet *E. coli* izole etmiştir. İzole edilen *E. coli* suşlarının direnç oranları sırasıyla, cefuroxim %88, amoksisilin/klavulanikasit %79, ampisillin/sulbaktam %67, gentamisin %54, tetrasiklin %48, aflaksin %30, nitrofurantoin %30, streptomisin %23, seftriakson %20, siproflaksin %2 ve sefepim %1 olarak bulunmuştur.

Holvoet vd. (2013) Belçika’da bulunan marul üretim yerlerinden marul fideleri, toprak, sulama suyu ve marul yaprakları dahil olmak üzere toplam 738 örnekten 473 *E. coli* izolatu elde etmişler ve bunların 66 tanesi fide torf toprağı, 171 tanesi ise çevrede bulunan topraktan izole edilmiştir. Yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda en yüksek direnç oranı ampisilin (%7) için bulunmuştur. Amikasin, siprofloksasin, gentamisin için ise direnç gözlenmemiştir. Ayrıca toprak örneklerinde de en yüksek direnç ampisilin antibiyotiğine karşıdır. Bizim çalışmamızda da en yüksek direnç oranı ampisilin antibiyotiğine karşı bulunmuştur.

Bir başka çalışmada sığırların gaita örneklerinden ve çiftlik toprağında izole edilen 35 (31 gaita ve 4 toprak izolatu) patojenik *E. coli* için yapılan antibiyotik duyarlılık testi sonucunda amoksisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine direnç %100 bulunmuştur. Seftriakson (%5), siprofloksasin (%7), amikasin (%10) ve gentamisin (%11) antibiyotiklerine karşı yüksek duyarlılık görülürken ampisilin (%92) ve streptomisin (%95) antibiyotiklerine karşı düşük duyarlılık sonuçları bulunmuştur (Bist vd., 2014).

Güney Kore’de yapılan çalışmada insan, tavuk, ördek, domuz, süt ve besi sığırlarından alınan gaita örneklerinden izole edilen 793 *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları incelenmiş ve %72,3’ünün (573) birden fazla antibiyotiğe dirençli olduğu bulunmuştur. Domuzlardan izole edilen *E. coli* izolatları en fazla sayıda antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. En yüksek direnç tetrasiklin antibiyotiğine karşıdır ve insan, tavuk ve sığırlarda seftazidim direncine rastlanmamıştır. Ayrıca bu çalışma antibiyotik direnç genlerinin bir *E. coli* alıcı türüne aktarılabilceğini göstermiştir (Unno vd., 2010).

Dinç vd. (2012) Ankara, Balıkesir ve Çorum’da bulunan süt işletmelerinden mastitis şüpheli inek sütlerinden izole ettikleri 92 adet *E. coli* için yaptıkları antibiyotik duyarlılık testlerinde en yüksek direnç oranlarına sahip antibiyotikler eritromisin (%69,6), ampisilin (%39,1) ve tetrasiklin (%34,8) olurken en düşük direnç ise streptomisin, seftaksim ve seftazidim antibiyotikleri olmuştur. Ayrıca bu çalışmada GSBL aktivitesi de araştırılmıştır ancak incelenen *E. coli* izolatlarında GSBL aktivitesine rastlanmamıştır.

DSÖ, GSBL üreten *E. coli*’yi dünya çapında antimikrobiyal direnç sürveyansı için temel bir gösterge olarak ilan etmiştir (Matheu J, 2017).

Çin'in Sichuan-Chongqing bölgesinde sağlıklı sığırlardan toplam 230 kloakal sürüntüden 222 *E. coli* izolatu elde edilmiş ve bu izolatların 102 izolatu (%45,9) GSBL fenotipini göstermiştir. Daha sonra yapılan PCR testi ile 88 (%39,6) *E. coli* suşunun *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}*, *bla_{TEM}* genleri eksprese ettiğini ve 21'inin *bla_{CTX-M}* suşu, 7'sinin *bla_{TEM}* suşu, 18'inin *bla_{SHV}* suşu ve 42 suşun ise iki veya tümünün birleşimi için pozitif olduğunu göstermiştir (Zhang vd., 2021).

Tayland'da yapılan çalışmada kümes hayvanlarından 467 gaita örneği (426 tavuk ve 41 ördek), çiftlik ortamından 88 örnek (54 toprak ve 34 su) ve 32 çiftçiden gaita örneği olmak üzere toplam 587 örnek toplanmıştır. 159 izolatu GSBL üreticisi olarak bulunmuştur ve %50'si insan gaita örneği, %25,9'u kümes hayvanları (%24,9 tavuk ve %36,6 ördek) ve çevresel örneklerin %25'inden (toprak %16,7 ve su %38,2) izole edilmiştir. GSBL üreten 159 *E. coli* arasından 152 izolatu *bla_{CTX-M}* açısından pozitifdir (Tansawai vd., 2019).

Mısır'da süt sığırları çiftliklerinden alınan 210 rektal sürüntü örneklerinde %46,6 (98) ve 56 adet kültür ve çevre örneklerinde ise %28,6 (16) oranında GSBL üreten *E. coli* varlığı saptamışlardır. 114 (%42,8) izolatu GSBL üreten *E. coli* olarak tanımlanmış ve her biri GSBL genlerinden (*bla_{CTX-M15}*, *bla_{CTX-M9}*, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*) en az birini barındırmaktadır. 103 (%90,4) izolatta *bla_{CTX-M15}* geni, 89 (%78) izolatta *bla_{TEM}* geni, 6 (%5,2) izolatta *bla_{CTX-M9}* geni ve 1 (%0,87) izolatta *bla_{SHV}* geni tespit edilmiştir (Braun vd., 2016).

Atlaw vd. (2021) ABD'de 65 izolatu koyun örneklerinden ve 48 izolatu mezbaha ortamından toplam 113 adet GSBL üreten *E. coli* izolatu elde etmişlerdir ve tüm genom analizi yapmışlardır. GSBL üreten *E. coli* izolatlarının %96'sı (108) CTX-M tipi genleri, %46,9 (53) *bla_{TEM-1}* geni taşıdığı tespit edilmiştir. CTX-M genlerinden en yaygın olarak %28,3 (32) oranı ile *bla_{CTX-M-1}* olmuştur. Ayrıca %11,5 (13) *bla_{CTX-M-15}* ve %1,8 (2) *bla_{CTX-M-14}* genleri bulunmuştur.

Pehlivanoglu vd. (2016) Türkiye'nin Burdur ilinde sağlıklı sığırlar (200) ve koyunlardan (200) aldıkları dışkı örneklerini incelemiş ve *E. coli* izolatlarında GSBL pozitiflik oranını sığırlarda %15,5 (31) ve koyunlarda %1,5(3) olarak belirlemiştir. Yapılan PCR taraması sonucunda sığır kökenli izolatlarda en yaygın genin %87,1 (27) oranı ile CTX-M olmuştur. %77,4 (24) TEM ve %9,7 (3) SHV genleri bulunmuştur. Koyunlardan izole edilen *E. coli* 'lerde ise %100 (3) CTX-M, %66,7 (2) TEM genleri tespit edilirken SHV genlerini

taşımamaktadır. Sığırlardan elde edilen izolatların %66,7'si (21) ve koyunlardan elde edilen izolatların %66,7'si (2) hem *bla_{CTX-M}* hem de *bla_{TEM}* taşıyıcısıdır.

Çin'de 2002'de 2009'a kadar yapılan bir çalışmada sağlıklı ve hasta gıda üreten hayvanlardan toplam 979 *E. coli* izolatı elde edilmiştir. Domuz ve ördekten izole edilen 14 tanesi *bla_{CTX-M-14}* için pozitif ve tümü çoklu ilaca dirençli bulunmuştur. 14 izolatın 8 tanesinde *bla_{TEM}* geni bulundurmaktadır (Liao vd., 2015).

Hartmann vd. (2012) Fransa Burgonya'da yaptıkları çalışmada toprak, sığır ve çiftlik ortamında CTX-M üreten *E. coli* varlığını araştırmıştır. 120 bölgeden elde ettikleri toprak DNA ekstraktlarının %20'sinde *bla_{CTX-M}* tespit edilmiştir. 182 çiftlikten 271 dışkı örneği toplanmış olup 12 çiftlikten GSBL üreten 13 adet *E. coli* izolatı elde edilmiş olup beşi *bla_{TEM-71}* ve sekizi *bla_{CTX-M-1}* genlerini taşımaktadır. TEM-71 taşıyan dört izolat genotipik olarak benzerlik göstermesine rağmen farklı çiftliklerden izole edilmişlerdir. Ayrıca CTX-M üreten *E. coli* lerin en az bir yıl toprakta hayatta kalabildiklerini belirtmektedir.

Kahraman vd. (2016) Türkiye'de Marmara bölgesinden 384 tane tavuk gaita örneği ile 384 tane tavuk eti toplamışlardır. Sefotaksim eklenmiş MacConkey agar kullanılarak *E. coli* izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Gaita örneklerinin 76 (%19,7) tanesinde ve et örneklerinin ise 14 (%3,6) tanesinde sefotaksim dirençli *E. coli* izole etmişlerdir. Kombine disk yöntemi kullanarak GSBL üreten *E. coli* lileri tespit etmişlerdir. Gaita örneklerinden 44 tanesi fenotipik olarak GSBL pozitif bulunmuş ve 42 (%95,4) tanesi en az bir tane GSBL geni taşımaktadır; *bla_{CTX-M}* (%95,4), *bla_{CTX-M-1}* (%81,8), *bla_{CTX-M-8}* (%4,5), *bla_{TEM}* (%45,4) ve *bla_{SHV}* (%2,2). Tavuk eti örneklerinde ise 5 tane GSBL pozitif izolat bulmuşlardır ve hepsi en az bir tane GSBL geni taşımaktadır; *bla_{CTX-M}* (%100), *bla_{CTX-M-1}* (%28,5), *bla_{TEM}* (%7,1).

Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada ise piliç kesimhanelerinde 300 tane kloakal örnek toplanmıştır ve %33,6'sında sefotaksime karşı azalan duyarlılık tespit etmişlerdir. Tüm örneklerin %11 (33)'nde GSBL üretmektedir. 33 *E. coli* izolatından sadece 8 örnek *bla_{TEM-1}* geni barındırmaktadır. 25 izolat GSBL genine sahiptir ve 23 izolatta CTX-M (%92) geni (20 CTX-M-15, 1 CTX-M-1, 1 CTX-M-9, 1 CTX-M-16) tespit edilmiştir (Ünal vd., 2017).

Hatay ilinde yapılan bir çalışmada sağlıklı sığırlardan alınan toplam 312 rektal sürüntü örneğinden 26 (%8,3)'sının GSBL/AmpC fenotipli *E. coli* olduğu bulunmuştur. PCR amplifikasyonu ve sekanslaması sonucu 12 (%46,2) *bla_{CTX-M-15}*, 11 (%42,3) *bla_{CTX-M-1}*, 2 (%7,7)

bla_{CTX-M-3} ve 1 (%3,8) *bla_{CMY-2}* barındırmaktadır (Aslantaş vd., 2016). Ülkemizde yapılan çalışmalarda en yaygın CTX-M-15 geni bulunurken bizim çalışmamızda CTX-M-14 geni bulunmuştur.

2000 yılından sonra toplum kökenli suşlarda da GSBL üretimine rastlanmıştır. Toplum kökenli GSBL üreten *E. coli* CTX-M enzimi ile ilk sırada yer almaktadır. CTX-M-15 dünyada yaygınlık gösterirken CTX-M-9 ve CTX-M-14 İspanya' da daha yaygındır (Tükenmez-Tigen ve Mülazimoğlu, 2012). Toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonu tanısı konulmuş 529 hasta örneklerinden 220 (%70)'si *E. coli* olarak tanımlanmış ve 88 (%40)'i GSBL üreticisi olarak belirlenmiştir (Şenol vd., 2020).

Çalışmamızda yapmış olduğumuz antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda üç izolat çoklu ilaca dirençli bulunmuştur (H2, H4 ve H36). H2 izolatu yapılan disk difüzyon yöntemi ile ampisilin, sefazolin, siprofloksasin, seftazidim, sefotaksim, seftriakson antibiyotiklerine, H4 ve H36 izolatu ampisilin, trimetoprim/sulfometaksazol, siproflaksasin antibiyotiklerine dirençli olarak bulunmuş ve çoklu ilaca dirençli olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda izole ettiğimiz H2 izolatu GSBL varlığının araştırılması amacıyla yapılan çift disk sinerji testi ile GSBL pozitif olarak bulunmuş ve tüm genom analizi yapılmıştır. Yapılan tüm genom analizi ile plazmidler üzerinde GSBL genlerinden CTX-M-14 ve TEM-1 genlerine rastlanmıştır. Ayrıca aminoglikozid antibiyotiklerine dirençten sorumlu *aadA2*, *APH(3'')-Ib*, *APH(6)-Id*, *AAC(3)-IIId*, *aadA5*, *APH(3'')-Ib*, *APH(6)-Id* genleri, tetrasiklin antibiyotiklerine dirençten sorumlu *tet(A)*, *tet(B)* genleri ve sulfonamid antibiyotiklerine dirençten sorumlu *sul1*, *sul2* ve *sul3* genleri bulunmuştur. Çoklu ilaç direnç fenotipinden sorumlu, sefalosporin ve tetrasiklin gibi antibiyotiklerin dışarı atımını teşvik eden ve antibiyotiğe karşı membran geçirgenliğini azaltan *acrA* ve *marA* kromozomal genleri bulunmuştur.

Çalışmamızda *E. coli*'nin yapılan diğer çalışmalarda tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu bilindiği için disk difüzyon yönteminde tetrasiklin antibiyotiği için direnç bakılmamıştır ve tüm genom analizi sonucunda da tetrasiklin antibiyotiklerine karşı direnç geni bulunmuştur.

Amikasin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı fenotipik olarak bir direnç bulunamamasına rağmen plazmidler üzerinde aminoglikozid direncinden sorumlu genler

bulunmuştur. Bulunan genler eksprese edilmemiş olabilir ancak plazmidler üzerinde buldukları için bu direnç genlerinin yayılımına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

Tüm genom analizi sonucunda H2 izolatının en çok sahip olduğu virülans faktörleri ise şöyledir; kıvrımlı lifler, *E. coli* ortak pilusu (ECP), *E. coli* laminin bağlayıcı fimbria (ELF), hemorajik *E. coli* pilusu (HCP), Tip I fimbria.

Antibiyotik dirençli bakterilerin ortaya çıkması büyük ölçüde direnç genlerinin yatay gen transferi yoluyla yayılmasından kaynaklanmaktadır. Bu gen transferlerine ekstra kromozomal genetik elementler olan plazmitler aracılık etmektedir. Bizim çalışmamızda izole ettiğimiz H2 izolatının plazmidler üzerinde GSBL genlerinden CTX-M-14 ve TEM-1 genlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durumun plazmit aracılı direnç aktarımında rol oynayacağı düşünülmektedir. Antibiyotik direnç genleri mikrobiyomlardaki bakteriler arasında, habitatteki mikrobiyomlar arasında ya da hayvan, insan ve çevresel habitatlar arasında yayılabilmektedir (Castañeda-Barba vd., 2024). GSBL üreten *E. coli*'nin insanlarda, hayvanlarda ve çevrede tespit ediliyor olması Tek Sağlık yaklaşımının önemini vurgulamaktadır. Antibiyotik direncinin yayılımının azaltılması ve önlenmesi için Tek Sağlık yaklaşımı büyük bir önem taşımaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Antibiyotik direnci günümüzde önemli küresel halk sağlığı sorunlarından biri olup yüksek mortalite ve morbidite gibi olumsuz etkilere sahiptir. Antibiyotik direncinin en önemli sebebi antibiyotik kullanımı olup antimikrobiyal dirençli organizmalar insan, hayvan, yiyecek, bitki ve çevrede (suda, toprakta ve havada) bulunabilmektedir. GSBL pozitif *E. coli*, Tek Sağlık yaklaşımı için güzel bir örnektir. Tek Sağlık; insanlar, hayvanlar ve ekosistemler için optimal ve sürdürülebilir sağlık sonuçlarını ulaşmayı amaçlayan entegre, birleştirici bir yaklaşımı ifade etmektedir (WHO, 2021).

Antimikrobiyal direncin yayılmasını değerlendirmek ve yerel, ulusal ve küresel stratejilerini izlemek için sürveyans oldukça önemlidir. Ülkemizde 2011 yılında kıyaslanabilir ve güvenilebilir direnç verilerinin toplanabilmesi için UAMDSS (Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi) kurulmuştur. Ayrıca UAMDSS, 2013 yılından itibaren DSÖ Avrupa Ofisi tarafından yürütülen “Orta Asya ve Doğu Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (CAESAR)’na dahildir (Yıldız vd., 2017).

Yapılan bu çalışmada çiftliklerde gaita ve toprak örnekleri incelenerek antimikrobiyal direncin ve direnç genlerinin hayvan, insan ve çevre arasındaki yayılımını anlamak ve tespit etmek amaçlanmıştır. Yapılan literatür taramasında ülkemizde çiftliklerden alınan toprak örneklerinde GSBL pozitif *E. coli* ile ilgili çalışmaların yetersiz olduğu kanısına varılmıştır. Çevresel izolatlarda antibiyotik direncin araştırılması, antimikrobiyal direnç ile mücadelede büyük bir öneme sahiptir.

Çalışmamızda izole edilen 120 *E. coli* içerisinden topraktan izole edilmiş olan sadece bir tane izolat GSBL pozitifdir. Gentamisin, amikasin, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı hiçbir izolatta direnç bulunamamıştır. Klinik izolatlara kıyasla çalışmamızda incelenen çevresel izolatlarda antibiyotik direnç oranları düşük bulunmuştur. Bunun sebebinin hayvanlarda büyüme teşviği olarak antibiyotiklerinin kullanımın yasaklanmış olması olduğunu düşünmekteyiz.

Çiftlikler ve toprak, su gibi insanlarla doğrudan ilişkili ortamların antibiyotik direnci ile ilişkisini, yayılımını anlayabilmek için daha çok veriye ihtiyaç duyulmaktadır. Antibiyotik direncinin önlenmesi için Tek Sağlık yaklaşımının önemi vurgulanmalıdır.



KAYNAKLAR

- Abushaheen, M. A., Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., & Vellappally, S. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 100971.
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & R, S. G. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 66(12), 5575-5599. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485>
- Ahmad, I., Malak, H. A., & Abulreesh, H. H. (2021). Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 27, 101-111.
- Alfei, S., and Schito, A. M. (2022). β -lactam antibiotics and β -lactamase enzymes inhibitors, part 2: our limited resources. *Pharmaceuticals*, 15(4), 476.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). Escherichia coli in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health*, 10(12), 6235-6254. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
- Aslantaş, Ö., Elmacıoğlu, S., & Eş, Y. (2016). Prevalence and characterization of ESBL- and AmpC-producing Escherichia coli from cattle. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(1).
- Atlaw, N. A., Keelara, S., Correa, M., Foster, D., Gebreyes, W., Aidara-Kane, A., Harden, L., Thakur, S., & Cray, P. J. F. (2021). Identification of CTX-M Type ESBL E. coli from sheep and their Abattoir environment using whole-genome sequencing. *Pathogens*, 10(11), 1480.
- Aytaç, B., Tanış, H., Aygan, A., & Ertaş, E. (2021). Lor Peynirlerinde Fekal Kaynaklı Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae Aranması ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Belirlenmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 10(1), 46-51.
- Banerjee, S., and van der Heijden, M. G. A. (2023). Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology*, 21(1), 6-20. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- Becker, B., and Cooper, M. A. (2013). Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century. *ACS Chemical Biology*, 8(1), 105-115. <https://doi.org/10.1021/cb3005116>
- Bekal, S., Brousseau, R., Masson, L., Prefontaine, G., Fairbrother, J., & Harel, J. (2003). Rapid identification of Escherichia coli pathotypes by virulence gene detection with DNA microarrays. *Journal of clinical microbiology*, 41(5), 2113-2125.
- Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. (2012). Role of Uropathogenic Escherichia coli Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. *International Journal of Nephrology*, 2012, 681473. <https://doi.org/10.1155/2012/681473>

- Bilgehan, H. (2002). *Besiyerleri, Ayıraçlar ve Deneyler. Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Fakülteler Kitapevi. Barış Yayınları.
- Bist, B., Sharma, B., & Jain, U. (2014). Virulence associated factors and antibiotic sensitivity pattern of *Escherichia coli* isolated from cattle and soil. *Veterinary World*, 7(5).
- Blount, Z. D. (2015). The unexhausted potential of *E. coli*. *Elife*, 4, e05826.
- Braun, S. D., Ahmed, M. F., El-Adawy, H., Hotzel, H., Engelmann, I., Weiß, D., Monecke, S., & Ehrlich, R. (2016). Surveillance of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in dairy cattle farms in the Nile Delta, Egypt. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1020.
- Bush, K. (2010). Alarming β -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Microbiol*, 13(5), 558-564. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.09.006>
- Bush, K., and Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 54(3), 969-976. <https://doi.org/10.1128/aac.01009-09>
- Cantón, R., and Coque, T. M. (2006). The CTX-M β -lactamase pandemic. *Current opinion in microbiology*, 9(5), 466-475.
- Canton, R., Gonzalez-Alba, J. M., & Galán, J. C. (2012). CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion [Review]. *Frontiers in Microbiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110>
- Carattoli, A. (2008). Animal reservoirs for extended spectrum β -lactamase producers. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 117-123.
- Castañeda-Barba, S., Top, E. M., & Stalder, T. (2024). Plasmids, a molecular cornerstone of antimicrobial resistance in the One Health era. *Nature Reviews Microbiology*, 22(1), 18-32. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00926-x>
- Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3). <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
- Chaudhuri, R. R., and Henderson, I. R. (2012). The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. *Infect Genet Evol*, 12(2), 214-226. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.01.005>
- Christaki, E., Marcou, M., & Tofarides, A. (2020). Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. *Journal of molecular evolution*, 88, 26-40.
- Christensen, H., Bachmeier, J., & Bisgaard, M. (2021). New strategies to prevent and control avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Avian Pathology*, 50(5), 370-381.
- Codjoe, F. S., and Donkor, E. S. (2017). Carbapenem resistance: a review. *Medical Sciences*, 6(1), 1.
- Collignon, P. J., and McEwen, S. A. (2019). One health—its importance in helping to better control antimicrobial resistance. *Tropical medicine and infectious disease*, 4(1), 22.

- D'Andrea, M. M., Arena, F., Pallecchi, L., & Rossolini, G. M. (2013). CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6-7), 305-317.
- Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infection and drug resistance*, 12, 3903-3910. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>
- Dağlar, D., and Öngüt, G. (2012). Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar GSBL ve Tanı Yöntemleri. *Annals of Health Sciences Research*, 1(1), 1-9.
- Dale, A. P., and Woodford, N. (2015). Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): disease, carriage and clones. *Journal of Infection*, 71(6), 615-626.
- De Angelis, G., Del Giacomo, P., Posteraro, B., Sanguinetti, M., & Tumbarello, M. (2020). Molecular Mechanisms, Epidemiology, and Clinical Importance of β -Lactam Resistance in Enterobacteriaceae. *Int J Mol Sci*, 21(14). <https://doi.org/10.3390/ijms21145090>
- Debbarma, S., Bora, D. P., Hazarika, R. A., Tamuly, S., Barua, A. G., Das, P., Goswami, C., Jerry, R. J., & Sinha, S. (2020). Molecular characterization of *Escherichia Coli* isolates from food animals. *Indian Journal of Animal Research*, 54(8), 985-993.
- Deborah Chen, H., and Frankel, G. (2005). Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(1), 83-98. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.07.002>
- Dinç, G., Ata, Z., & Temelli, S. (2012). Investigation of extended-spectrum beta-laktamase activity and antibiotic resistance profile of *Escherichia coli* strains isolated from bovine mastitis. *ANKARA UNIVERSITESI VETERINER FAKULTESI DERGISI*, 59(2).
- Drieux, L., Brossier, F., Sougakoff, W., & Jarlier, V. (2008). Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 90-103.
- Duan, Q., Xia, P., Nandre, R., Zhang, W., & Zhu, G. (2019). Review of Newly Identified Functions Associated With the Heat-Labile Toxin of Enterotoxigenic *Escherichia coli* [Review]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00292>
- Dutta, A., Joshi, N., Joshi, R. K., & Kamal, A. (2013). Molecular Characterization of *E. coli* Isolated from Raw Vegetable. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2(1), 42-45.
- Ersoy, M. A. (2019). Gram Negatif Bakterilerin Beta-Laktamaz Enzim Çeşitliliği ve Türkiye'deki Hayvan Orjinli Bakterilerdeki Durum.
- EUCAST. (2022). *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST clinical breakpoint table*. <http://www.eucast.org>.
- Ewers, C., Janssen, T., & Wieler, L. H. (2003). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 116(9-10), 381-395.

- Falagas, M., and Karageorgopoulos, D. E. (2009). Extended-spectrum β -lactamase-producing organisms. *Journal of Hospital Infection*, 73(4), 345-354.
- Filazi, A., Dikmen, B., & Kuzukıran, Ö. (2015). Kanatlılarda antibiyotik direnci. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 1(2), 42-51.
- Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, 10(4), 369-378.
- Gambushe, S. M., Zishiri, O. T., & El Zowalaty, M. E. (2022). Review of Escherichia Coli O157: H7 prevalence, pathogenicity, heavy metal and antimicrobial resistance, African perspective. *Infection and drug resistance*, 4645-4673.
- Ghafourian, S., Sadeghifard, N., Soheili, S., & Sekawi, Z. (2015). Extended spectrum beta-lactamases: definition, classification and epidemiology. *Current issues in molecular biology*, 17(1), 11-22.
- Govindarajan, D. K., Viswalingam, N., Meganathan, Y., & Kandaswamy, K. (2020). Adherence patterns of Escherichia coli in the intestine and its role in pathogenesis. *Medicine in Microecology*, 5, 100025.
- Gyles, C. L. (2007). Shiga toxin-producing Escherichia coli: An overview1. *Journal of Animal Science*, 85(suppl_13), E45-E62. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-508>
- Hartl, D. L., and Dykhuizen, D. E. (1984). The population genetics of Escherichia coli. *Annual review of genetics*, 18(1), 31-68.
- Hartmann, A., Amoureux, L., Locatelli, A., Depret, G., Jolivet, C., Gueneau, E., & Neuwirth, C. (2012). Occurrence of CTX-M Producing Escherichia coli in Soils, Cattle, and Farm Environment in France (Burgundy Region) [Original Research]. *Frontiers in Microbiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00083>
- Hernando-Amado, S., Coque, T. M., Baquero, F., & Martínez, J. L. (2019). Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nature Microbiology*, 4(9), 1432-1442. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0503-9>
- Holmes, A. H., Moore, L. S., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., Guerin, P. J., & Piddock, L. J. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, 387(10014), 176-187.
- Holvoet, K., Sampers, I., Callens, B., Dewulf, J., & Uyttendaele, M. (2013). Moderate prevalence of antimicrobial resistance in Escherichia coli isolates from lettuce, irrigation water, and soil. *Applied and environmental microbiology*, 79(21), 6677-6683.
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental Escherichia coli: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570-581. <https://doi.org/10.1111/jam.13468>
- Jann, K., and Jann, B. (1987). Polysaccharide Antigens of Escherichia coli. *REVIEWS OF INFECTIOUS DISEASES*, 9, 5.

- Jensen, B. H., Olsen, K. E. P., Struve, C., Krogfelt, K. A., & Petersen, A. M. (2014). Epidemiology and Clinical Manifestations of Enteroaggregative Escherichia coli. *Clinical microbiology reviews*, 27(3), 614-630. <https://doi.org/doi:10.1128/CMR.00112-13>
- Johnson, J. R., and Russo, T. A. (2002). Extraintestinal pathogenic Escherichia coli: "the other bad E coli". *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 139(3), 155-162.
- Kahraman, B. B., Sığircı, B. D., & Celik, B. (2016). Detection of extended-spectrum β -lactamase and AmpC β -lactamase producing Escherichia coli isolates from chickens. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg*, 22, 591-596.
- Kanje, U., and Houry, W. A. (2013). Mechanisms of Acid Resistance in Escherichia coli. *Annual Review of Microbiology*, 67(1), 65-81. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155708>
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic Escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Kathayat, D., Lokesh, D., Ranjit, S., & Rajashekara, G. (2021). Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC): An Overview of Virulence and Pathogenesis Factors, Zoonotic Potential, and Control Strategies. *Pathogens*, 10(4), 467. <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/4/467>
- Kau, A. L., Hunstad, D. A., & Hultgren, S. J. (2005). Interaction of uropathogenic Escherichia coli with host uroepithelium. *Current opinion in microbiology*, 8(1), 54-59.
- Kim, J.-S., Lee, M.-S., & Kim, J. H. (2020). Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli and Its Potential Reservoirs [Mini Review]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00273>
- Kong, K. F., Schneper, L., & Mathee, K. (2010). Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *Apmis*, 118(1), 1-36.
- Köhler, C.-D., and Dobrindt, U. (2011). What defines extraintestinal pathogenic Escherichia coli? *International Journal of Medical Microbiology*, 301(8), 642-647.
- Leimbach, A., Hacker, J., & Dobrindt, U. (2013). E. coli as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. *Curr Top Microbiol Immunol*, 358, 3-32. https://doi.org/10.1007/82_2012_303
- Leimbach, A., Hacker, J., & Dobrindt, U. (2013). E. coli as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. *Between pathogenicity and commensalism*, 3-32.
- Liao, X.-P., Xia, J., Yang, L., Li, L., Sun, J., Liu, Y.-H., & Jiang, H.-X. (2015). Characterization of CTX-M-14-producing Escherichia coli from food-producing animals. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1136.
- Lima, L. M., da Silva, B. N. M., Barbosa, G., & Barreiro, E. J. (2020). β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *European journal of medicinal chemistry*, 208, 112829.

- Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A. V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., Reeves, P. R., Knirel, Y. A., Wang, L., & Widmalm, G. (2020). Structure and genetics of Escherichia coli O antigens. *FEMS Microbiology Reviews*, *44*(6), 655-683.
- Madıgan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2017). *Brock Biology of Microorganisms* (C. Çökmüş, Trans.). Palme Yayıncılık.
- Mainil, J. (2013). Escherichia coli virulence factors. *Veterinary immunology and immunopathology*, *152*(1-2), 2-12.
- Majiduddin, F. K., Materon, I. C., & Palzkill, T. G. (2002). Molecular analysis of beta-lactamase structure and function. *International Journal of Medical Microbiology*, *292*(2), 127-137.
- Manges, A. R., Geum, H. M., Guo, A., Edens, T. J., Fibke, C. D., & Pitout, J. D. D. (2019). Global Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli (ExPEC) Lineages. *Clinical microbiology reviews*, *32*(3), e00135-00118. <https://doi.org/doi:10.1128/CMR.00135-18>
- Marijani, E. (2022). Prevalence and antimicrobial resistance of bacteria isolated from marine and freshwater fish in Tanzania. *International Journal of Microbiology*.
- Marshall, B. M., and Levy, S. B. (2011). Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clinical microbiology reviews*, *24*(4), 718-733. <https://doi.org/doi:10.1128/CMR.00002-11>
- Marston, H. D., Dixon, D. M., Knisely, J. M., Palmore, T. N., & Fauci, A. S. (2016). Antimicrobial Resistance. *JAMA*, *316*(11), 1193-1204. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.11764>
- Matheu J, A.-K. A., Andremont A. (2017). *The ESBL Tricycle AMR Surveillance Project: A Simple, one Health Approach to Global Surveillance*. <http://resistancecontrol.info/2017/the-esbl-tricycle-amr-surveillance-project-a-simple-one-health-approach-to-global-surveillance/>
- McDonald, K. L., Garland, S., Carson, C. A., Gibbens, K., Parmley, E. J., Finley, R., & MacKinnon, M. C. (2021). Measures used to assess the burden of ESBL-producing Escherichia coli infections in humans: a scoping review. *JAC-Antimicrobial Resistance*, *3*(1). <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaa104>
- Mokady, D., Gophna, U., & Ron, E. Z. (2005). Virulence factors of septicemic Escherichia coli strains. *International Journal of Medical Microbiology*, *295*(6-7), 455-462.
- Mukuna, W., Anime, T., Pokharel, B., Khwatenge, C., Basnet, A., & Kilonzo-Nthenge, A. (2023). Antimicrobial Susceptibility Profile of Pathogenic and Commensal Bacteria Recovered from Cattle and Goat Farms. *Antibiotics*, *12*(2), 420.
- Nataro, J. P. (2005). Enterohaggative Escherichia coli pathogenesis. *Current Opinion in Gastroenterology*, *21*(1), 4-8. https://journals.lww.com/co-gastroenterology/Fulltext/2005/01000/Enterohaggative_Escherichia_coli_pathogenesis.3.asp
- Nataro, J. P., and Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic escherichia coli. *Clinical microbiology reviews*, *11*(1), 142-201.

- Nataro, J. P., Kaper, J. B., Robins-Browne, R., Prado, V., Vial, P., & Levine, M. M. (1987). Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *The Pediatric infectious disease journal*, 6(9), 829-831.
- Okeke, I. N., and Nataro, J. P. (2001). Enteroaggregative *Escherichia coli*. *The Lancet infectious diseases*, 1(5), 304-313.
- Omerovic, M., Müştak, H. K., & Kaya, İ. B. (2017). *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri. *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 28(1), 1-6.
- Oteo, J., Pérez-Vázquez, M., & Campos, J. (2010). Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 23(4), 320-326. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283398dc1>
- Öcal, D. (2012). Gram negatif bakterilerde antibakteriyal direncin fenotipik yöntemler ile tayin ve bildirimi. *Ankem Derg*, 26(3), 154-164.
- Pasqua, M., Michelacci, V., Di Martino, M. L., Tozzoli, R., Grossi, M., Colonna, B., Morabito, S., & Prosseda, G. (2017). The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward Pathogenicity [Review]. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02390>
- Paterson, D. L., and Bonomo, R. A. (2005). Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical microbiology reviews*, 18(4), 657-686. <https://doi.org/doi:10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>
- Paton, J. C., and Paton, A. W. (1998). Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clinical microbiology reviews*, 11(3), 450-479.
- Pehlivanoglu, F., Turutoglu, H., Ozturk, D., & Yardimci, H. (2016). Molecular characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from healthy cattle and sheep. *Acta Veterinaria*, 66(4), 520-533.
- Pitout, J. D., and Laupland, K. B. (2008). Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet infectious diseases*, 8(3), 159-166.
- Pitout, J. D., Sanders, C. C., & Sanders Jr, W. E. (1997). Antimicrobial resistance with focus on β -lactam resistance in gram-negative bacilli. *The American journal of medicine*, 103(1), 51-59.
- Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 6.4.14. <https://doi.org/doi:10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, 109(7), 309-318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
- Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiol*, 4(3), 482-501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>

- Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., Cohen, J., Findlay, D., Gyssens, I., & Heure, O. (2015). The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New microbes and new infections*, 6, 22-29.
- Ron, E. Z. (2010). Distribution and evolution of virulence factors in septicemic *Escherichia coli*. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(6), 367-370.
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut pathogens*, 11, 1-16.
- Servin, A. L. (2005). Pathogenesis of Afa/Dr Diffusely Adhering *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 18(2), 264-292. <https://doi.org/doi:10.1128/CMR.18.2.264-292.2005>
- Sesli, O. T. (1985). Sığırlardan İzole Edilen *Escherichia Coli* Suşlarının Hemaglutinasyon Yeteneklerinin İncelenmesi Üzerine Çalışmalar. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(8-9), 84-103.
- Sonola, V. S., Katakweba, A. S., Misinzo, G., & Matee, M. I. N. (2021). Occurrence of Multi-Drug-Resistant *Escherichia coli* in Chickens, Humans, Rodents and Household Soil in Karatu, Northern Tanzania. *Antibiotics*, 10(9), 1137. <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/9/1137>
- Süleymanoğlu, A. A., Aksu, H., & Aydın, A. (2022). Enterobacteriaceae Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz ile Karbapenem ve Kolistin Direnci. *Bozok Veterinary Sciences*, 3(1), 12-19.
- Szmolka, A., and Nagy, B. (2013). Multidrug resistant commensal *Escherichia coli* in animals and its impact for public health. *Frontiers in Microbiology*, 4, 258.
- Şenol, A., Yakupoğulları, Y., & Şenol, F. F. (2020). Toplum Kökenli Üriner Sistem İnfeksiyonlarında Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamaz Üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* ve Antimikrobiyal Dirençleri. *Klinik Journal/Klinik Dergisi*, 33(2).
- Tansawai, U., Walsh, T. R., & Niumsup, P. R. (2019). Extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among backyard poultry farms, farmers, and environments in Thailand.
- Telli, A. E., and Doğruer, Y. (2013). Gıda Kaynaklı Bakteriyel Patojenlerde Patojeniteye Genel Bakış. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*(2), 51-59.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American journal of medicine*, 119(6), S3-S10.
- TMC. (2017). EUCAST Klinik ve /veya epidemiyolojik önemi olan direnç mekanizmaları ve direnç özelliklerini saptama kılavuzu. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi*.
- Tosun, İ. (2021). *Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Kitabı*. Palme Yayınevi.
- Töreci, K. (2003). Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi. *Flora*, 8(2), 89-110.

- Tunçkanat, F. (1993). Üriner sistem infeksiyonu patogeneğinde bakteriyel virulans faktörleri. *Klinik Derg*, 6(3).
- Turner, P. J. (2005). Extended-Spectrum β -Lactamases. *Clinical Infectious Diseases*, 41(Supplement_4), S273-S275. <https://doi.org/10.1086/430789>
- Tükenmez-Tigen, E., and Mülazımoglu, L. (2012). Toplum Kökenli Enfeksiyonlarda Genişlemiş Spektrumlu [Beta]-Laktamazlar ve Klinik Önemi/Extended-Spectrum [Beta]-Lactamases and Their Clinical Importance in Community-Acquired Infections. *Klinik Dergisi*, 25(3), 94.
- Unno, T., Han, D., Jang, J., Lee, S.-N., Kim, J. H., Ko, G., Kim, B. G., Ahn, J.-H., Kanaly, R. A., & Sadowsky, M. J. (2010). High diversity and abundance of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from humans and farm animal hosts in Jeonnam Province, South Korea. *Science of the Total Environment*, 408(17), 3499-3506.
- Uriarte, E. L. L., Pasayo, R. A. G., Massó, M., Paez, L. C., Moncla, M. D., Donis, N., Malena, R., Méndez, A., Morrell, E., & Giannitti, F. (2022). Molecular characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* of the phylogroups A and C in dairy calves with meningitis and septicemia. *Microbial Pathogenesis*, 163, 105378.
- Ünal, N., Karagöz, A., Aşkar, Ş., Dilik, Z., & Yurteri, B. (2017). Extended-spectrum β -lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in healthy broilers in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 41(1), 72-76.
- Van Bruggen, A. H., Goss, E. M., Havelaar, A., van Diepeningen, A. D., Finckh, M. R., & Morris Jr, J. G. (2019). One Health-Cycling of diverse microbial communities as a connecting force for soil, plant, animal, human and ecosystem health. *Science of the Total Environment*, 664, 927-937.
- Verraes, C., Van Boxtael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B., de Schaezen, M. A., Van Huffel, X., Imberechts, H., Dierick, K., Daube, G., Saegerman, C., De Block, J., Dewulf, J., & Herman, L. (2013). Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *Int J Environ Res Public Health*, 10(7), 2643-2669. <https://doi.org/10.3390/ijerph10072643>
- Von Baum, H., and Marre, R. (2005). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. *International Journal of Medical Microbiology*, 295(6-7), 503-511.
- Wang, H., Zhong, Z., Luo, Y., Cox, E., & Devriendt, B. (2019). Heat-stable enterotoxins of enterotoxigenic *Escherichia coli* and their impact on host immunity. *Toxins*, 11(1), 24.
- Weintraub, A. (2007). Enterococcal *Escherichia coli*: epidemiology, virulence and detection. *Journal of medical microbiology*, 56(1), 4-8.
- WHO. (2014). *Antimicrobial resistance global report on surveillance: 2014 summary*
- WHO. (2017). *Antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including tuberculosis*.
- WHO. (2021). *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobialresistance>

- Wiles, T. J., Kulesus, R. R., & Mulvey, M. A. (2008). Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Experimental and molecular pathology*, 85(1), 11-19.
- Worthington, R. J., and Melander, C. (2013). Overcoming Resistance to β -Lactam Antibiotics. *The Journal of Organic Chemistry*, 78(9), 4207-4213. <https://doi.org/10.1021/jo400236f>
- Wright, G. D., and Sutherland, A. D. (2007). New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. *Trends in molecular medicine*, 13(6), 260-267.
- Yıldız, S. S., Şimşek, H., Çöplü, N., Gülay, Z., & Grubu, U. Ç. (2017). Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS) Dış Kalite Değerlendirme Çalışmaları. *Mikrobiyol Bul*, 51(3), 247-259.
- Yu, D., Banting, G., & Neumann, N. F. (2021). A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus *Escherichia* and the type species *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 67(8), 553-571. <https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0508> %M 33789061
- Zango, U. U., Ibrahim, M., Shawai, S., & Shamsuddin, I. (2019). A review on β -lactam antibiotic drug resistance. *MOJ Drug Des. Develop. Ther*, 3(2), 52-58.
- Zhang, Y.-L., Huang, F.-Y., Gan, L.-L., Yu, X., Cai, D.-J., Fang, J., Zhong, Z.-j., Guo, H.-r., Xie, Y., Yi, J., Wang, Z.-s., & Zuo, Z.-C. (2021). High prevalence of blaCTX-M and blaSHV among ESBL producing *E. coli* isolates from beef cattle in China's Sichuan-Chongqing Circle. *Scientific Reports*, 11(1), 13725. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93201-z>

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Didem KARADEMİR

