



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KLİNİK *Escherichia coli* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ
GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BAZI BİTKİ ÖZÜTLERİNİN KİNOLON
DİRENÇLİ İZOLATLAR ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Funda OKUMUŞ

KASIM 2019

GÜMÜŞHANE

**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**KLİNİK *Escherichia coli* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ
GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BAZI BİTKİ ÖZÜTLERİNİN KİNOLON
DİRENÇLİ İZOLATLAR ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Funda OKUMUŞ

**Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
“Biyoteknoloji Anabilim Dalı”
Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :19.11.2019
Tezin Sözlü Savunma Tarih :12.12.2019**

KASIM 2019



KABUL ve ONAY



Dr.Öğr.Üyesi Azer ÖZAD DÜZGÜN danışmanlığında **Funda OKUMUŞ** tarafından hazırlanan “**KLİNİK *Escherichia coli* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BAZI BİTKİ ÖZÜTLERİNİN KİNOLON DİRENÇLİ İZOLATLAR ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’ nda Yüksek Lisans Tezi olarak Oy Birliği/~~Oy Çoğunluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Başkan

: Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL

Üye (Danışman)

: Dr. Öğr. Üyesi Azer ÖZAD DÜZGÜN

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Şeref AKAY

ONAY

Bu tez **08./01/2020** tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ferkan SİPAHİ

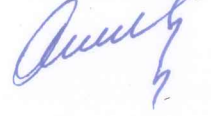
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda tezin yazımına ait kurallara uygun olarak hazırladığım “**Klinik *Escherichia coli* İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Araştırılması ve Bazı Bitki Özütlerinin Kinolon Dirençli İzolatlar Üzerine Etkisinin Belirlenmesi**” isimli yüksek lisans tezi çalışmasında; söz konusu tüm bilgi ve belgeleri genel akademik kurallara göre elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

19/11/2019

Funda OKUMUS



ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KLİNİK *Escherichia coli* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ
GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BAZI BİTKİ ÖZÜTLERİNİN KİNOLON
DİRENÇLİ İZOLATLAR ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Funda OKUMUŞ

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr.Üyesi Azer ÖZAD DÜZGÜN

2019, 68 sayfa

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) her yıl dünya çapında 150 milyon insanı etkileyen yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir ve en yaygın etken, üropatojenik *Escherichia coli*'dir.

Bu çalışmada; Kasım 2015-Ağustos 2016 yılları arasında Türkiye'de Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden izole edilen 90 *E. coli* izolatında β -laktamaz kodlayan genler, virülans faktör genleri, sınıf 1 integronları ve plazmid aracılı kinolon direnç genlerinin varlığı PZR yöntemiyle araştırıldı. PZR sonucu, integron pozitif örnekler pGEM-T vektörüne klonlanarak baz dizin analizine gönderildi. Sonuçlar biyoinformatik programlar kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca kinolon dirençli bakterilere karşı *Mentha piperita* L. (nane), *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye), *Curcuma longa* (zerdeçal) , *Hypericum*

perforatum (sarı kantaron), *Camellia sinensis* (yeşil çay), *Alkanna tinctoria* (havacıva), *Urtica dioica* L. (ısırgan otu), *Aloe vera* L. (sarısabır) , *Tilia tomentosa*'nın (ıhlamur) bitki özütlerinin, minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) belirlendi.

Çalışmada kullanılan 90 *E. coli* izolatu VITEK 2 Kompakt sistem ile tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları, bu izolatların fosfomisin (% 2.7), imipenem (% 3.2) ve meropenem (%3.2) karşı düşük direnç oranlarına sahip olduğu ortaya koymuştur. Ancak, siprofloksasin (% 62.2), trimetoprim sülfometaksozol (% 75.6) ve ampisiline (% 61.1) direnç oranlarının yüksek olduğu belirlenmiştir.

PZR sonuçları, suşların % 63'ünün (57/90) sınıf 1 integron gen kasetlerini taşıdığını ortaya koymuştur ve baz dizin analize göre sınıf 1 integronun *dhfr* gen kaseti taşıdığı belirlendi. CTX-M-2 grubu β -laktamaz taşıyan 52 izolat (% 57) ve CTX-M-1 grubu β -laktamaz taşıyan 52 izolat (% 57) tespit edildi. Ayrıca plazmit aracılı kinolon direç genleri PZR ile belirlendi ve sonuçta suşların, % 26'sının (24/90) *qnrA*, % 6.6'sının (6/90) *qnrB* ve % 3.3'ünün (3/90) *qnrS* geni taşıdığı tespit edildi. 90 *E. coli* izolatu arasında 11 farklı virülans faktör paterni tespit edildi. En yaygın virülans gen faktörü olarak *fim* (35 izolatta) belirlenirken, *hly-fim*, *afa-aer-cnfx-fim*, *aer-cnfx*, *afa-aer* ve *afa-cnfx-fim* paternleri daha az sayıda suşta görüldü. İzolatların 14'ünde virülans gen faktörü saptanmadı.

Çalışmada kullanılan bitki özütlerinin, MİK değerlerinin belirlenmesi sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile yapıldı. Deneyler 96 well-plate kullanılarak üç tekrarlı halinde gerçekleştirildi. Yapılan çalışmalar sonucunda; en yüksek antibakteriyel aktiviteyi *Alkanna tinctoria* özütü göstermiş olup MİK değerleri EC58 ve EC85 için 1.25 mg/ml, EC50 ve EC90 için ise MİK değeri 2.5 mg/ml olarak tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnç, *Escherichia coli*, Kinolon, MİK, Sınıf 1 İntegron, Virülans

ABSTRACT
MS THESIS

**INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN CLINICAL
Escherichia coli ISOLATES AND DETERMINATION OF THE EFFECT OF SOME
PLANT EXTRACTS ON QUINOLON RESISTANT ISOLATES**

Funda OKUMUŞ

Gümüşhane University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology

Supervisor: Assist. Prof. Dr Azer ÖZAD DÜZGÜN

2019, 68 pages

Urinary tract infections (UTIs) are one of the most common bacterial infections affecting 150 million people worldwide each year, and the most common cause is uropathogenic *Escherichia coli*.

In this study; the presence of β -lactamase encoding genes, virulence factor genes, class 1 integrons and plasmid-mediated quinolone resistance genes in 90 *E. coli* strains isolated from Turkey Rize Training and Research Hospital, Between November 2015-August 2016, were investigated by PCR. PCR result, integron positive samples were cloned into pGEM-T vector and sent to base sequence analysis. Results were evaluated using bioinformatics programs. The minimum inhibition concentrations (MIC) of the plant extracts of *Mentha piperita* L. (mint), *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary), *Curcuma*

longa (turmeric), *Hypericum perforatum* (yellow centaury), *Camellia sinensis* (green tea), *Alkanna tinctoria* (alkanet), *Urtica dioica* L. (nettle), *Aloe vera* L. (aloe vera), *Tilia tomentosa* (linden) were determined.

The 90 *E. coli* isolates used in the study were identified by VITEK 2 Compact system. Antibiotic susceptibility test results showed that these isolates had low resistance rates for phosphomycin (2.7%), imipenem (3.2%) and meropenem (3.2%). However, resistance rates of ciprofloxacin (62.2%), trimethoprim sulfomethoxosol (75.6%) and ampicillin (61.1%) were found to be high.

PCR results showed that 63% (57/90) of the strains carried class 1 integron gene cassettes and it was determined that class 1 integron carried dhfr gene cassette according to base sequence analysis. 52 strains (57%) carrying β -lactamase in CTX-M-2 group and 52 isolates carrying β -lactamase in CTX-M-1 group were detected. Plasmid-mediated quinolone resistance genes were also detected by PCR and the strains were found to carry 26% (24/90) qnrA, 6.6% (6/90) qnrB and 3.3% (3/90) qnrS genes. Eleven different virulence factor patterns were detected among 90 *E. coli* isolates. *Fim* (35 isolates) was identified as the most common virulence gene factor, while *hly-fim*, *afa-aer-cnf-fim*, *aer-cnf*, *afa-aer* and *afa-cnf-fim* patterns were observed in fewer strains. No virulence gene factor was detected in 14 of the isolates.

The determination of MIC values of the plant extracts used in the study was performed by liquid microdilution method. The experiments were performed in three replications using 96 well-plates. As a result of the studies, *Alkanna tinctoria* extract showed the highest antibacterial activity and MIC values were found to be 1.25 mg / ml for EC58 and EC85 and MIC value of 2.5 mg / ml for EC50 and EC90.

Keywords: Antibiotic resistance, *Escherichia coli*, Quinolone, MIC, Class 1 Integron, Virulance

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmalarım sırasında bilgilerini ve tecrübelerini benden esirgemeyip, hayatımın her alanında karşılaştığım zorluklarda bana yardımcı olan sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Azer ÖZAD DÜZGÜN'e tezime ve gelecekteki hayatıma sunduğu katkılarından dolayı minnetlerimi ileterek, teşekkür ederim.

Bitkilerin teminini sağlayan ve ekstrakte edilmesinde desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKAR'a, klinik örneklerin elde edilmesinde yardımcı olan Doç. Dr. Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK'e, laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarımda bana her zaman destek olan, zor ve bir o kadar da güzel günleri birlikte paylaştığım değerli laboratuvar arkadaşım Sedanur CİNEMRE'ye teşekkür ederim.

Dostlarım; Hediye ATLI, Aylin KARAKURT ve Seren ÖZTÜRK'e vermiş oldukları desteklerden ötürü teşekkür ederim.

Tüm yaşamım boyunca bir an olsun desteğini benden esirgemeyip, arkamda duran, bana inanan, girdiğim hiçbir yolda beni yalnız bırakmayan ve her türlü zorluğa göğüs germemde beni teşvik eden annem Elif OKUMUŞ, babam Fuat OKUMUŞ, ablam Meltem OKUMUŞ ve kardeşim Bahar OKUMUŞ'a bana sundukları tüm maddi ve manevi imkanlardan dolayı teşekkür ederim.

Funda OKUMUŞ

Gümüşhane, 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	IV
ABSTRACT	VI
TEŞEKKÜR	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIII
TABLolar DİZİNİ.....	XIV
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	XV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. <i>Escherichia coli</i>	2
1.2.1. Tarihçesi	2
1.2.2. Mikrobiyolojik Özellikleri.....	2
1.2.2.1. Morfoloji.....	2
1.2.2.2. Üreme Özellikleri ve Biyokimyasal özellikleri	3
1.2.2.3. Antijen Yapıları	3
1.2.3. Epidemiyolojisi.....	4
1.2.4. Üropatojenik <i>E. coli</i> 'nin Virülans Faktörleri.....	4
1.2.4.1. Adezinler.....	4
1.2.4.1.1. Tip 1 Fimbria	5
1.2.4.1.2. P Fimbria	5
1.2.4.1.3. Afa / Dr Fimbria Ailesi.....	6
1.2.4.2. Bakteriyel Hemolizinler.....	6
1.2.5. <i>E. coli</i> Kaynaklı Enfeksiyonlar	6
1.2.5.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları	6
1.2.5.2. Yenidoğan Menenjitleri	7
1.2.5.3. Enterik Enfeksiyonlar	7
1.2.5.3.1. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC).....	7
1.2.5.3.2. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC, STEC, VTEC).....	8
1.2.5.3.3. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC).....	8
1.2.5.3.4. Enteropatojenik <i>E.coli</i> (EPEC).....	9

1.2.5.3.5.	Enteroagregativ <i>E.coli</i> (EAEC veya EAggEC)	9
1.2.5.3.6.	Diffüz aderent <i>E.coli</i> (DAEC)	9
1.2.6.	Tedavi Yöntemleri	10
1.3.	Antibiyotiğin Tarihi	11
1.3.1.	Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....	11
1.3.2.	β -laktam Antibiyotikler	12
1.3.2.1.	Penisilinler	13
1.3.2.2.	Sefalosporinler.....	14
1.3.2.3.	Karbapenemler.....	14
1.3.2.4.	Monobaktamlar.....	15
1.3.3.	Kinolonlar	15
1.3.3.1.	Kinolonların Etki Mekanizması.....	16
1.4.	Antibiyotik Direnci ve Direnç Mekanizmaları	16
1.4.1.	Doğal Direnç.....	17
1.4.2.	Kazanılmış (Kalıtsal Direnç) Direnç	17
1.4.3.	Antibiyotik İnaktivasyonu Sonucu Gelişen Direnç	18
1.4.4.	Hedef Molekülün Değişimi ile Gelişen Direnç	18
1.4.5.	Aktif Pompa Sistemleri ve Hücre Duvarı Permeabilite Değişimi ile Gelişen Direnç	18
1.4.6.	Kinolonların Direnç Mekanizması	19
1.4.7.	Plazmit Aracılı Kinolon Direnci.....	20
1.5.	β -laktamazlar	20
1.5.1.	β -laktamazların Sınıflandırılması	21
1.5.1.1.	AmpC β -Laktamazlar	21
1.5.1.2.	Genişlemiş Spektrumlu β -laktamazlar.....	21
1.5.1.3.	Metallo- β -laktamazlar (MBL)	23
1.6.	İntegron ve Gen Kasetleri.....	24
1.7.	Bitki Özülerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Önemi	25
1.7.1.	Nane (<i>Mentha piperita L.</i>)	26
1.7.2.	Yeşil Çay (<i>Camellia sinensis</i>)	26
1.7.3.	İhlamur (<i>Tilia tomentosa</i>).....	27
1.7.4.	Havacıva (<i>Alkanna tinctoria</i>)	28
1.7.5.	Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis L.</i>).....	28

1.7.6.	Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>).....	29
1.7.7.	Sarı Kantaron (<i>Hypericum perforatum L.</i>)	30
1.7.8.	Sarısabır (<i>Aloa vera L.</i>).....	31
1.7.9.	Isırgan otu (<i>Urtica dioica L.</i>).....	31
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	33
2.1.	Materyal	33
2.1.1.	Kullanılan Alet ve Ekipmanlar	33
2.1.2.	Kullanılan Kimyasallar, Enzimler, Vektörler, Kitler.....	34
2.1.3.	Besiyerlerinin Hazırlanması	34
2.1.4.	Çözelti ve Tampon Solüsyonlarının Hazırlanışı	34
2.2.	Yöntem	35
2.2.1.	İzolatlarının Temini	35
2.2.2.	İzolatlarının Stoklanması	35
2.2.3.	DNA İzolasyonu	35
2.2.4.	İzolatlarda Antibiyotik Direnç Determinantlarının, Virülans Faktör Genlerinin ve Sınıf 1 İntegronların PZR İle Taranması	35
2.2.5.	Agaroz Jel Elektrophorezi ve Görüntüleme	38
2.2.6.	Kompetent Hücrelerin Hazırlanması.....	38
2.2.7.	PZR Sonucunda Pozitif Çıkan Sınıf 1 İntegronların pGEM-T Easy Vektörüne Klonlanması.....	38
2.2.9.	Bazı Bitki Ekstrelerinin Kinolon Dirençli İzolatlar Üzerine Etkisinin Araştırılması	39
2.2.9.1.	Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Temini.....	39
2.2.9.2.	Bitki Özütlelerinin Hazırlanması.....	39
2.2.9.3.	Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi İle Bitki Özütlelerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	40
3.	BULGULAR.....	41
3.1.	İzolatların Temini ve Tanımlanması.....	41
3.2.	İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları.....	41
3.3.	<i>E. coli</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları	41
3.4.	β -laktamaz Genlerinin, Virülans Faktör Genlerinin ve Sınıf 1 İntegronların Belirlenmesi.....	42
3.5.	Bazı Bitki Özütlelerinin Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Kinolon Dirençli <i>E. coli</i> İzolatları Üzerindeki Etkisinin Araştırılması.....	47
4.	TARTIŞMA	50

5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
6.	KAYNAKLAR.....	58
	ÖZGEÇMİŞ	



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. <i>E. coli</i> 'nin ışık mikroskop ile çekilmiş görüntüsü.....	3
Şekil 1.2. Enterik enfeksiyona neden olan <i>E. coli</i> 'lerin etki mekanizmaları.....	10
Şekil 1.3. β -laktam antibiyotikler.	13
Şekil 1.4. Penisilin ve sefalosporinlerin temel moleküler yapıları	14
Şekil 1. 5. Monobaktamın temel yapısı.	15
Şekil 1. 6. Kinolonların temel yapısı	16
Şekil 1. 7. Kinolon direnç mekanizmaları	19
Şekil 1. 8. İntegronun yapısı	24
Şekil 1. 9. Nane (<i>Mentha piperita</i> L.).....	26
Şekil 1. 10. Yeşil Çay (<i>Camellia sinensis</i>)	27
Şekil 1. 11. <i>Tilia tomentosa</i> 'nın (ıhlamur) yaprak ve çiçek yapısı.	27
Şekil 1. 12. Havacıva (<i>Alkanna tinctoria</i>)	28
Şekil 1. 13. Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	29
Şekil 1. 14. Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>) ve toz hali.	30
Şekil 1. 15. Sarı Kantaron (<i>Hypericum perforatum</i> L).	30
Şekil 1. 16. Sarısabır (<i>Aloa vera</i> L.)	31
Şekil 1. 17. Dişi (a) ve erkek (b) çiçekli <i>Urtica dioica</i>	32
Şekil 3. 1. <i>E. coli</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları.....	42
Şekil 3. 2. β -laktamaz genler ve integronların prevalansı.....	43
Şekil 3. 3. Virulans faktör genleri jel görüntüsü.	44
Şekil 3. 4. İntegron pozitif örneğin jel görüntüsü	46
Şekil 3. 5. Mavi-beyaz koloni oluşumu	46
Şekil 3. 6. Genin nükleotid dizisi.....	47
Şekil 3. 7. Aminoasit dizisi.....	47
Şekil 3. 8. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Belirlenen Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları	49

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Hedef bölgelerine göre antimikrobiyallerin sınıflandırılması.....	12
Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan Primerler.....	36
Tablo 2.2. Virülans Faktör Genlerini Çoğaltmak için Kullanılan Primerler	37
Tablo 2.3. Çalışmada kullanılan bitkiler ve Latince adları.....	39
Tablo 2.4. Çalışmada kullanılan bitki özütlerinin konsantrasyonları.....	40
Tablo 3.1. Suşlarda virülans faktörü ve antibiyotik direnç genlerinin prevalansı.....	44
Tablo 3.2. 90 <i>E. coli</i> izolatlarında virülans modellerinin prevalansı.....	45
Tablo 3.3. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Belirlenen Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları	48

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AmpC	:Ampisilin sınıf C
AmpD	:Ampisilin sınıf D
AmpG	:Ampisilin sınıf G
AmpR	:Ampisilin sınıf R
<i>attl 1</i>	:İntegron ilişkili rekombinasyon bölgesi
aac(6')-Ib	:Aminoglikozid 6' - N- asetiltransferaz
BES	:Brezilya genişlemiş spektrum
Bla	:Beta laktamaz
C°	:Derece
CaCl ₂	:Kalsiyum klorür
cm	:Santimetre
CTX	:Sefotaksim
CTX-M	:Sefotaksim hidrolizleyen
DAEC	: <i>Diffüz aderent Escherichia coli</i>
dk	:Dakika
dNTP	:Deoksिनुकлеотид
DMSO	:Dimetil sülfoksit
EAEC	:Enteroagregativ <i>Escherichia coli</i>
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EcoRI	: <i>E. coli</i> RY13
EDTA	:Etilendiamin tetra asetik asit
EPEC	:Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ETEC	:Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	:Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>
EHEC	:Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
FIM	:Floransa imipenemaz
GES	:Guyana genişlemiş spektrum
GIM	:Alman imipenemaz
GSBL	:Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
HCl	:Hidroklorik asit
HUS	:Hemolitik Üremik Sendrom
IMP	:İmipenem üzerinde aktif metallo beta laktamaz
IPTG	:İzopropiltiogalaktozid
<i>intl 1</i>	:Sınıf 1 integras
İYE	:İdrar Yolu Enfeksiyonları
KCl	:Potasyum Klorür

LB	:Luria-Bertani
L	:Litre
LT	:Isıya Labil Toksin
M	:Molar
m	:Metre
MBL	:Metallo beta-laktamaz
MDa	:Megadalton
MDR	:Çoklu İlaç Direnci
Mg	:Miligram
MgCl ₂	:Magnezyum Klorür
MIK	:Minimum inhibisyon konsantrasyonu
ml	:Mililitre
mM	:Milimolar
NaCl	:Sodyum klorür
NDM	:New Delhi metallo beta laktamaz
OXA	:Oksilinaz grup β -laktamaz
<i>P.</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>P_{ant}</i>	:Gen kaset ekspresyonunu sağlayan promotor
PER	:Pseudomonas genişlemiş direnç
Pint	:İntegrazın transkripsiyonundan sorumlu promotor
Pmol	:Pikomol
PZR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
<i>qacEΔ1</i>	:Kuaterner amonyum direnç geni
RNA	:Ribonükleik asit
Rpm	:Dakikadaki dönüş sayısı
SHV	:Sülfidril değişken
SIM	:Seoul imipenemaz
ST	:Isıya Stabil Toksin
STEC	: <i>Shiga-toksin üreten Escherichia coli</i>
Stx	:Shiga toksin
TAE	:Tris-asetik asit-etilendiamintetraasetik asit
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TEM	:Temoniera
TMP-SMX	:Trimetoprim-sulfametoksazol
UV	:Ultraviyole
UPEC	:Üropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ÜSİ	:Üriner Sistem Enfeksiyonları
ORF	:Açık okuma çerçevesi
VEB	:Vietnam genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
VIM	:Verona integron kökenli metallo beta laktamaz

VTEC	:Verotoksin üreten <i>Escherichia coli</i>
X-Gal	:5-Bromo-4-kloro-3-indol-b-D-galaktozid
Zn ⁺²	:Çinko
β	:Beta
μg	:Mikrogram
μl	:Mikrolitre
μM	:Mikromolar



1. GENEL BİLGİLER

1.1.Giriş

Escherichia coli (*E. coli*), idrar yolu enfeksiyonlarına (İYE) neden olan en yaygın etiyolojik ajanlar arasında bulunur. *E. coli*'nin neden olduğu enfeksiyonlar halk sağlığı açısından ciddi bir problem haline gelmiştir (Farell vd., 2003; Tarchouna vd., 2013). *E. coli* suşlarının patojenitesinden pek çok virülans faktörü sorumludur (Tarchouna vd., 2013; Johnson, 1991). *E. coli* virülans faktörlerinin, hücre içinde üretilen ve etki bölgesinde salınan virülans faktörleri ve hücrenin yüzeyinde görüntülenen virülans faktörleri olmak üzere iki tipi vardır (Emody vd., 2003). P fimbrialar *pap* genleri tarafından kodlanmaktadır ve ana yapışma faktörleridir (Jadhav vd., 2011). S fimbrialar *Sfa* genleri tarafından kodlanmaktadır (Pobiega vd., 2013). *E. coli*'de toksinler bir başka önemli virülans faktörüdür (Johnson, 1991). β -laktamazlar (β -laktam antibiyotiklerini hidrolize eden enzimler) amino asit dizilerine bağlı olarak, sınıf A, Sınıf B, Sınıf C, Sınıf D olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Dört β -laktamaz sınıfı da *E. coli*'de tanımlanmıştır. Metallo- β -laktamazlar (MBL) dünya genelinde yaygındır (Cornaglia vd., 2011). İYE'lerin tedavisinde kinolonlar yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu yaygın kullanım sonucunda *E. coli*'de direncin artmasına neden olmuştur (Yanat vd., 2014). Plazmid aracılı kinolon direnç genlerinden *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genleri sorumludur. İntegronlar, antibiyotik direncinin yayılmasına katkı sağlayan mobil genetik elementlerdir. Sınıf 1 integron genleri ilk kez klinik suşlarda keşfedildiğinde birçok gen kaseti ortaya çıktı. İntegronların bakteriyel çoklu ilaç direncinin oluşmasındaki rolü önemlidir. ÜSİ (üriner sistem enfeksiyonları) hastalarından izole edilen *E. coli* izolatları ile yapılan çalışmalarda antimikrobiyal direnç ile integronlar arasında sıkı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Özad Düzgün vd., 2019).

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, Kasım 2015-Ağustos 2016 yılları arasında Türkiye'de Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden izolasyonu yapılan 90 *E. coli* izolatının virülans genleri, β -laktamaz kodlama genleri, kinolon direnç genleri, fosfomisin direnç genleri, sınıf 1 integron gen kasetlerinin varlığı araştırıldı ve kinolon dirençli bakterilere karşı nane, yeşil çay, ıhlamur, havacıva, biberiye, zerdeçal, sarı kantaron, sarısabır ve ısırgan otu bitki özütlerinin minimum inhibisyon konsantrasyonları belirlendi.

1.2. *Escherichia coli*

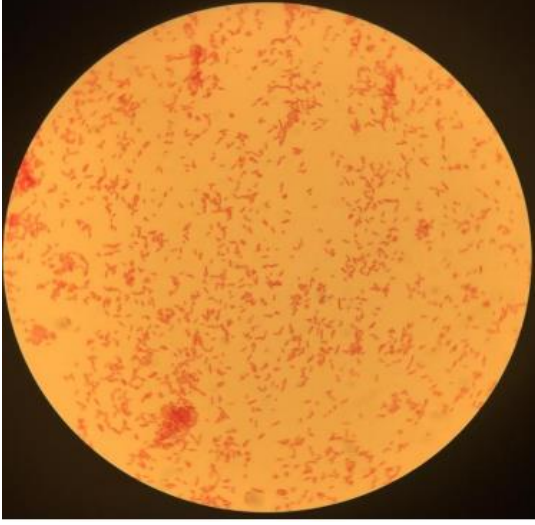
1.2.1. Tarihçesi

Enterobakteria ailesinin en önemli üyesi olan *E. coli*'nin keşfi ilk olarak 1885'de *Bacterium coli commune* olarak tanımlanmıştır. Bağırsak dışı enfeksiyonlarındaki patojenliğinin tanımlanmasının ardından, 1919 yılında Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia* cins ismi verilmiştir. 1945 yılında serogrup 0111 suşlarının çocuklarda ishale neden olduğunun anlaşılmasıyla bağırsak patojeni olan *E. coli* (EPEC) suşları tanımlanmaya başlanmıştır. 1969 yılında Orta Doğu'da bulunan İngiliz askerlerinin ishalinden enteropatojenik *E. coli* (ETEC) suşları izole edilmiştir. Yine 1969 yıllarında Japonya ve Brezilya'da meydana gelen basilli dizanteriden fark edilmeyen bağırsak enfeksiyonlarına neden olan enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) suşlarının izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 1982 yılında ise A.B.D'de meydana gelen büyük bir salgınla enterohemorajik *E. coli* (EHEC) suşlarının izolasyonu yapılmıştır (Töreci, 2002).

1.2.2. Mikrobiyolojik Özellikleri

1.2.2.1. Morfoloji

E. coli, Enterobakteria ailesinde bulunan diğer bakterilerde olduğu gibi gram negatiftir, çomak şekline sahiptir ve spor bulundurmaz. Boyutları genellikle 2-4 µm uzunluğunda, 1 µm eninde olmaktadır. Granül içermemekle birlikte homojen olarak boyanmaktadır. Mikroskopta boyanmamış bir kısım olarak görülen kapsül oluşturma nadirdir. Ancak çok sayıda suş polisakkarit temelindeki M antijenine sahip mikrokapsül ya da polisakkarit temelindeki K antijenine sahip slaym (slime) tabakalarından meydana gelmektedir. Bunlar mikroskopta anlaşılmayan ama bu antijenlere karşı hazırlanmış bağışık serumlarla gerçekleştirilen serolojik deneylerde saptanabilen yapılardır. *E. coli* hareketli bir bakteri olmakla birlikte hareketsiz suşları da vardır. *E. coli* genellikle fimbria oluşturur ve bu fimbrialar protein yapıdadır (Töreci, 2002). Şekil 1.1'de *E. coli*'nin mikroskop görüntüsü verilmiştir.



Şekil 1.1. *E. coli* 'nin ışık mikroskop ile çekilmiş görüntüsü (Arık, 2019).

1.2.2.2. Üreme Özellikleri ve Biyokimyasal özellikleri

E. coli bakterisi buyyon ya da jeloz gibi besiyerlerinde aneorob (fakültatif) üreme gösterirler. En uygun üreme ısısı 37°C' dir. 15-45°C'de üreyebilmektedirler ancak 44°C' de üreme göstermeleri benzer bakterilerden ayırt edilmesini sağlayan önemli bir özelliktir. pH'ın 7.2 olduğu ortamlarda optimal üreme gerçekleştirirler. Buyyon besiyerinde genellikle homojen bulanıklığa neden olurlar. Jelozda ise biraz kabarık, yuvarlak, düzgün kenarlı 1-2 mm çapta ve parlak olan S tipi kolonileri meydana getirirler. Kökenleri M koloni ya da R koloni şeklinde olabilir. Kanlı jelozda bazı kökenler hemoliz yapabilir (Bilgehan, 2000). *E. coli*'nin glikozdan asit ve gaz meydana getirmesi en önem arz eden biyokimyasal özelliğidir. *E. coli*'nin hareketsiz inaktif olan suşları laktozu fermente etmez ve glikozdan gaz oluşturmaz (Töreci, 2002).

1.2.2.3. Antijen Yapıları

E. coli genel olarak O somatik, H kirpik antijeni ile K kapsül antijeni bulundurur.

O Antijeni: Somatik ve ısıya dayanıklı olan O antijeni lipopolisakkarit yapıdadır. Kaynatmaya ve alkole direnç gösterirken formole karşı dirençsizdir. *E. coli* O antijenleri ve *Citrobacter*, *Providencia* *Salmonella* ile *Shigella* bakterilerinin O antijenleri arasında çeşitli karışıklıklara neden olan birçok çapraz reaksiyon vardır (Bilgehan, 2000).

H Antijeni: Hareketli suşlardaki H antijenleri (kirpik antijenleri) protein yapısındadır ve sıcaklığa duyarlıdır. *E. coli*'de yaklaşık olarak 60'a yakın H antijeninin olduğu belirlenmiştir. H antijenleri tek fazlı olur ve bir bakteri her zaman aynı H antijenine sahip kirpik oluşturmaktadır (Töreci, 2002).

K Antijeni: K antijeni bulunduran *E. coli*'ler O antiserumları ile aglütine olmazlar ve polisakkarit yapısındadır. Isıya dayanıklı olan K antijenleri 100-120°C'de bir iki saat kaynatılarak yok edilebilirler (Bilgehan, 2000).

1.2.3. Epidemiyolojisi

E. coli sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarında yaşayan bakteridir. Ortam koşullarına göre kısa ya da uzun süreli canlı kalabilse de doğada üreyemezler. Bu nedenle suda, besinlerde ya da çevrede *E. coli*'ye rastlamak dışkı ile kontaminasyonun belirtisi olarak kabul edilir (Töreci, 2002).

1.2.4. Üropatojenik *E. coli*'nin Virülans Faktörleri

Mikroorganizmaların hastalık oluşturma kabiliyetlerine virülans denir. Üriner sistemde inflamasyona neden olan bakterilerin inflamasyon oluşturma dereceleri aynı değildir. Üriner patojenlerinin bazıları virülan ve fırsatçı olup sadece konakçı savunmaları baskılandığında enfeksiyon oluşturur. Diğer üriner patojenler ise normal kolon florasının küçük bir bölümünü oluşturmaktadırlar ancak sahip oldukları virülans faktörlerinin etkisiyle kolon florasından seçilerek üriner sisteme kolaylıkla girebilir ve konakçı savunmalarına karşı koyarak enfeksiyon oluşturlar (Tunçkanat, 1993). *E. coli*'nin virülans faktörleri hücre yüzeyinde üretilenler ve hücre içinde üretilenler olmak üzere iki ana kısımdan meydana gelmektedir. Yüzeyde bulunan fimbrialar, konakçı hücrelerin yüzeyine tutunmasında rol almaktadır fakat aynı zamanda değişik fimbria mekanizmalarından (biyofilm oluşturma, sitokin indüksiyonu vb.) meydana gelmektedirler (Emody vd., 2003).

1.2.4.1. Adezinler

Adezinler, virülansla ilişkili bakterilerin hücre yüzeyi bileşenleridir ve konakçı hücreye yapışma özelliğine sahip bakteriyel proteinlerdir (Patel vd., 2017). Fimbrialar, adezyondan mesul olan önemli yüzey adezinleri veya ligandları şeklinde tanımlanmaktadır.

Bakteriler uçlarında adezin bulunan 100-200 fimbria taşıyabilmektedir. Farklı morfolojik ve işlevsel özellikleri olan birçok yeni fimbria tipinin tanımlanmasında elektron mikroskopisi ve eritrosit aglütinasyonu yöntemleri kullanılmıştır. Üropatojenik olan *E. coli*'nin fimbriaları adezin proteinlerinin reseptör özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır (Tunçkanat, 1993).

1.2.4.1.1. Tip 1 Fimbria

Tip 1 fimbrialar üropatojenik *E. coli*'de (UPEC) kesin bir virülans faktörüdür ancak bu fimbrianın geniş dağılımı patojenik suşlarla sınırlı değildir. Tip 1 fimbrialar tek başına uzun süreli bir enfeksiyon oluşumunda yeterli değildir (Lüthje ve Brauner, 2014). Hemen hemen tüm üropatojenik *E. coli* izolatları ve Enterobacteriaceae familyasında bulunan birçok tür Tip 1 fimbriayı kodlar. UPEC suşları genellikle, yüzeylerinde Tip 1 fimbria adı verilen saç benzeri lifleri eksprese eder ve bunun sonucunda idrar yolunu kaplayan konakçı hücrelerin bağlanmalarını ve istila etmelerini sağlar. Tip 1 fimbria ve *FimH* yapışması UPEC'nin idrar yolunun etkili bir şekilde kolonileştirilmesinde büyük öneme sahiptir. *FimH*, Tip 1 fimbria *E. coli*'nin mannoz içeren konakçı glikoprotein reseptörlerini bağlamasına neden olur ve bunun sonucunda hedef konakçı hücrelere hem bakteri yapışmasına hem de istila etmesine aracılık etmesini sağlayan bir N-terminali karbonhidrat bağlanma cebine sahip olur (Eto vd., 2007).

1.2.4.1.2. P Fimbria

P fimbrialar, *E. coli pap* (piyelonefritle ilişkili pilus) operonu tarafından kodlanmaktadır. P fimbrialar, yalnızca sınırlı sayıda *E. coli* serotipi ile eksprese edilmesine rağmen en önemli mannoz dirençli adezinlerdir (Jadhav vd., 2011). P fimbria, eritrosit ile üroepitelyal hücrelerde bulunan kan grubu antijenlerine spesifik olarak bağlanması sebebiyle P fimbria olarak isimlendirilmektedir. P fimbria yalnızca *E. coli* suşları aracılığıyla uygun çevresel üreme şartlarında yapılmaktadır. P fimbrialar üromukoide yapışmazlarken üroepitelyal hücrelere karşı aşırı derecede adere olmaktadır. Kompleks bir yapıya sahip olan P fimbrialar birkaç farklı fimbrial antijen olarak eksprese edilmektedirler. Tek bakteri üzerinde bulunan bir fimbria hem mannoza duyarlı hem de dirençli olabilmektedir. P fimbriada glikosfingolipidler reseptör görevi görmektedir. Glikolipitlerin Gal alfa 1-4, Gal beta kısımları P fimbriaya spesifiktir (Tunçkanat, 1993).

1.2.4.1.3. Afa / Dr Fimbria Ailesi

Afimbrial ya da fimbriyal olmayan adezinler olarak tanımlanan bazı adezinler, uzun zamandır ishale ve İYE'lere sebep olan *E. coli* suşlarının yüzeyindeki amorf, dış zara bağlı olan bir yapı ile ilişkilendirilmiştir. *Afa-1* operonu, 1984'te bir üropatojenik *E. coli*'den izole edilmiştir ve bakteriyel yüzey üzerindeki görünür fimbrialarla ilişkili olmayan bir adezini kodlayan ilk belirleyicidir (Bouguénec ve Servin, 2006). P fimbriyanın olmadığı durumlarda ortaya çıkan izolatların çoğu, Dr kan grubu antijeninin çeşitli bölümlerine bağlanan fimbrial olmayan adezinler için spesifik DNA problemleriyle melezlenir (Johnson, 1991).

1.2.4.2. Bakteriyel Hemolizinler

Hemolizinler bakteriyel sitotoksik polipeptid olup, eritrositleri eritirler. Bunların yanında poliform nüveli lökosit, monosit ve fibroblast gibi hücrelere karşı daha fazla in vitro toksik etki oluştururlar. Alfa hemolizin *E. coli*'de bulunur ve renal tübüler hücrelere zarar vermektedir. Hemolizin, alt üriner sistemde bakteri peristantını meydana getirmektedir. Pyelonefritojenik *E. coli* suşlarının in vitro olarak renal tübüler epitelyal hücre kültürlerine sitotoksik etki göstermelerinin hemolizin yapımı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Hemolizin üretimi kromozomda gerçekleşmektedir ancak plazmitlere de kodlanabilmektedir. Üropatojenlerdeki kromozomal hemozin üretimi predominanttır. Hemolizin kodlayan genler ile P fimbria üretimi ve serum direncini kodlayan genlerin kromozom üzerinde yan yana bulunup, birbirleriyle korele oldukları da ilginç bulgular arasındadır (Tunçkanat, 1993).

1.2.5. *E. coli* Kaynaklı Enfeksiyonlar

1.2.5.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSİ) hastanelere en sık başvuru sebebidir. Kuzey Amerika verilerine göre senede 7 milyon insan üriner enfeksiyon sebebiyle hastanelere başvurmaktadır ve kullanılan antibiyotiklerin % 15'i üriner enfeksiyonların tedavisi için kullanılmaktadır. ÜSİ, bakteriüri ve piyürinin birlikte meydana getirdikleri ürotelyal epitelin oluşturduğu inflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır. Bakteriüri, normal koşullarda steril olan idrardaki belli bir miktarda bulunan bakteridir. Piyüri, ürotelyal

epitelin bakteriye karşı oluşturmuş olduğu inflamatuvar yanıt neticesinde idrardaki lökosit varlığı olarak bilinmektedir (Özkan ve Özkan, 2010).

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) insanları olumsuz etkileyen en fazla karşılaşılan bulaşıcı hastalıklar arasındadır. İYE'ler bunun yanı sıra ekonomik yükü de fazla olan önemli ve yaygın halk sağlığı sorunudur. İYE'lere genellikle gram negatif bakteriler sebep olmaktadır. Komplike olmayan sistit ve piyelonefrite neden olan temel patojen *E. coli*'dir (Mazzoriot vd., 2017).

Komplike olmayan ÜSİ, yapısal ve fonksiyonel bakımdan normal bir üriner sisteme sahip kişilerde meydana gelen üriner enfeksiyonlar için tanımlanmaktadır. Komplike üriner sistem enfeksiyonu ise yapısal ve/veya fonksiyonel bozukluklar sebebiyle enfeksiyon olasılığının arttığı veya tedaviye alınan cevabın azalabildiği kişilerde meydana gelen enfeksiyonları tanımlamaktadır (Özkan ve Özkan, 2010).

1.2.5.2. Yenidoğan Menenjit

Menenjit, merkezi sinir siteminde en sık görülen ve ciddi bir enfeksiyondur. Dünya genelinde özellikle yenidoğan ve çocuklarda önemli derecede morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır. Ağır bir bulaşıcı hastalık olan bakteriyel menenjitin mortalite oranları % 10-15 arasında değişmektedir. Gelişmiş ülkelerde görülme sıklığının 1000 canlı doğumda 0.25 olduğu bildirilmiştir. Yenidoğan menenjitine neden olan başlıca patojenler, *Streptococcus agalactiae* ve *E. coli*'dir (Barichello vd., 2013).

1.2.5.3. Enterik Enfeksiyonlar

E. coli bağırsak enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Enfeksiyona neden olan bakteri çeşitleri Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC, STEC, VTEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enteroagregativ *E. coli* (EAggEC), Diffüz aderent *E. coli* (DAEC)'dir (Omerovic vd., 2017).

1.2.5.3.1. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

ETEC'in ishalin oluşumunda önemli etken olmasının önemi 1960'lı yılların sonlarına doğru anlaşılmıştır. O zamandan günümüze kadar bu bakterinin epidemiyolojisi ve patogenezi hakkında oldukça geniş bilgi elde edilmiştir. ETEC suşları, dünyanın

tropikal ya da subtropikal bölgelerini ziyaret eden sanayileşmiş ülkelerden gelen turistler arasında önemli bir ishal ajanıdır (Guth, 2000).

ETEC, ısıya stabil toksin (ST) ve ısıya labil toksin (LT) olarak iki tip enterotoksin grubundan meydana gelmektedir. ETEC suşları enterotoksin ST ve LT'nin etkisiyle ishale yol açmaktadır. LT, LT-1 ve LT-2 olmak üzere iki gruptan meydana gelmektedir. LT-1 hem insanlarda hem de hayvanlarda patojen olan *E. coli* suşları ile ifade edilmektedir (Nataro ve Kaper, 1998).

Bağırsak sisteminde bulunan tripsin, safra tuzları ve demir eksikliği, LT'nin *E. coli*'den salınmasını uyarmaktadır. LT-1'in yapısal genleri plazmitlerde bulunur ve bu plazmitler ETEC'in adherans genlerini ve antimikrobiyal direnç genlerini taşımaktadır. ST, ETEC suşlarının % 75'inde yalnız ya da LT ile birlikte bulunmaktadır. ST yapısal olarak birbirinden farklı olan ST-1 ve ST-2 olmak üzere iki gruptan meydana gelmektedir (İşeri Abut, 2007).

1.2.5.3.2. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC, STEC, VTEC)

İlk olarak 1977 yılında keşfedilen STEC insan ve hayvanlarda hastalığa neden olan patotiplerden biridir. *Shigella dysenterae* aracılığıyla üretilen Shiga toksinin *E. coli*'nin genetik ve protein yapısının benzer olması nedeniyle STEC olarak isimlendirilmiştir. STEC için VTEC (Verotoksin üreten *E. coli*) ya da EHEC (Enterohemorajik *E. coli*) gibi başka isimlendirmeler de kullanılmaktadır (Omerovic vd., 2017).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), ishal, kanlı ishal ve hemolitik üremik sendrom (HUS) dahil olmak üzere insanlarda çeşitli hastalıklara neden olmaktadır ve Shiga toksinin (Stx) patojenik alt grubudur. HUS, immün olmayan hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek yetmezliği ile karakterize olan ve önemli bir hastalıktır (Marejkova vd., 2013). Shiga toksin (Stx) ana virülans faktörüdür ve STEC enfeksiyonlarında birçok semptomun oluşmasına hatta ölüme sebep olan faktördür. Stx, Stx1 ve Stx2 olmak üzere iki alt grup vardır (Omerovic vd., 2017).

1.2.5.3.3. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

EIEC'in keşfi ilk olarak 1944'te "paracolon bacillus" smiyle rapor edilmiş ve daha sonraki yıllarda *E. coli* O124 olarak tanımlanmıştır (Ud-Din ve Wahid, 2014). EIEC'nin biyokimyasal olarak ilk tanımlanması 1967 yılında gerçekleşmiştir. Bağırsak patojeni olan

EIEC, kolunun epitelyal hücrelerine girerek çoğalır ve komşu hücreler arasında *Shigella bakterisine* benzer bir mekanizma ile hareket eder (Pasqua vd., 2017). *EIEC*, dünyanın farklı bölgelerinde önemli bir enterik patojendir ve bu ajan genellikle hafif dizanteriye sebep olmaktadır. *EIEC*'nin geneli *Shigella* grubundakilerle aynı olan, 120-140 MDa plazmid kodlayan virülansa sahiptir (Constantiniu vd., 2001).

1.2.5.3.4. Enteropatojenik *E.coli* (EPEC)

EPEC grubunun alt çeşitleri ağır gerçekleşen kanlı ve sulu ishale sebep olmaktadır. Genellikle bebek ve çocuklarda hastalık etmeni olan EPEC bağırsak epiteline tutunarak etki etmektedir. Virülans faktörü olarak EPEC intimini tanımlanmıştır ve intimini belirleyen gen 50-70 MDa büyüklükteki plazmitte saptanmıştır. Bu genin belirlendiği plazmit ek olarak pilus kodlayan geni de taşımaktadır. EAST 1 (enterotoksin) geni pek çok enterovirulent *E. coli*'de aynı olan bir özelliktir. Elde edilen çalışmalar neticesinde EAST 1 geninin en çok STEC'lerde var olduğu belirlenmiştir.

O157:H7 serotipinin %100'ünde, O157:H7 haricindeki STEC serotiplerinin %50'sinde ETEC'lerin ortalama %40'ında, EPEC'lerin ortalama %20'sinde ve Diffüz aderent *E. coli* (DAEC)'lerin de ortalama %10'unda EAST 1 geni belirlenmiştir (Taşdemir, 2009).

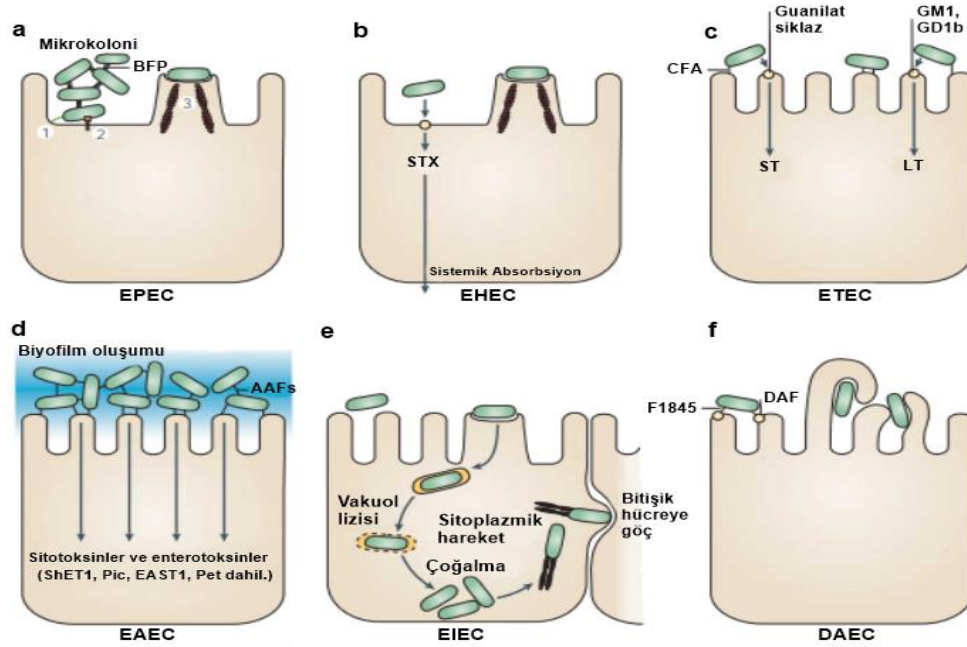
1.2.5.3.5. Enteroagregatif *E.coli* (EAEC veya EAggEC)

Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), birçok klinik ortamda artan bir şekilde enterik hastalık sebebidir. EAEC, en çok bebeklerde ve küçük çocuklarda akut sulu ishale sebep olmaktadır ve gelişmekte olan ülkelerde, büyüme eksiklikleri potansiyeli olan kalıcı ishalin baskın sebebi olduğu bildirilmiştir (Roche vd., 2010). Hücre kültüründe bulunan serotipler hücreler üzerinde agrege olmaktadır ve bu agregasyon 60 MDa büyüklüğünde olan virulans plazmidyle ilgili olabileceği sanılmaktadır. EAggEC'lerin virülans faktörlerinin %50'sini EAST 1 oluşturmaktadır (Taşdemir, 2009).

1.2.5.3.6. Diffüz aderent *E.coli* (DAEC)

DAEC, Hep-2 adeziv aracılığıyla mikrokoloni oluşturmayan *E. coli*'lerden temel almaktadır. Enteroagregatif *E. coli*'nin keşfedilmesinden sonra pek çok bilim insanı Diffüz

aderent *E. coli*'yi potansiyel bağımsız diye nitelendirmiştir ve DAEC suşlarının, Hep-2 hücrelerinin yüzeyinde bulunan parmak şeklindeki çıkıntılara girebilecekleri ispatlanmıştır (Omerovic vd., 2017). Şekil 1.2'de enterik enfeksiyona neden olan *E. coli*'lerin etki mekanizmaları gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Enterik enfeksiyona neden olan *E. coli*'lerin etki mekanizmaları (Kaper vd., 2004).

1.2.6. Tedavi Yöntemleri

E. coli ÜSİ'lerin meydana gelmesindeki en önemli etkidir. ÜSİ'ler tedavi edilirken en fazla sülfonamid grubu antibiyotikler ve siprofloksasin gibi β -laktam grubunda olan antibiyotiklere yer verilmektedir. ÜSİ'lerin tedavisinde kültür sonuçları beklenilmeden tedaviye başlanması, *E. coli* izolatlarında antibiyotik direncinin artmasına sebebiyet vermektedir. Tüm bunların sonucu olarak bu hastalıkların tedavisinde başarılı sonuç almak gün geçtikçe zorlu bir hal almaktadır. ÜSİ'lerin tedavisinde tüketilen bir başka antibiyotik ise kinolondur ve bu antibiyotik grubunun da fazla kullanılması sonucunda kinolon direncinde artış görülmektedir. ÜSİ'lere sebebiyet veren *E. coli* suşlarında, SXT direnci ve kinolon direnç profillerinin yüksek çıktığı zamanlarda tedavide nitrofurantoin veya fosfomisin aracılığıyla cevap alınmaktadır (Arık, 2019).

1.3.Antibiyotiğin Tarihi

Pasteur ve Joubert, mikrobiyolojide büyük atılımların yapıldığı 19. yüzyılın ikinci yarısında mikroorganizmalardan faydalanabileceklerini ilk kez düşünmüşler. Araştırmacılar steril idrarda şarbon basillerinin iyi ürediğini keşfetmiş ancak diğer bakterilerle kirlenmiş idrarda üreyemediklerini keşfetmişlerdir ve bilim insanları bunun nedenini deneysel olarak belirlemek için çalışmalar yapmışlardır. Pasteur ve Joubert diğer bakterilerin bulaşmış olduğu idrara karıştırılmış basillerin deney hayvanlarındaki hastalık yapıcı etkilerinin olmadığını belirlemeleri enfeksiyonların antibiyotik ile tedavi edilmesiyle ilgili atılmış ilk adımdır (Chambers, 2001; Koç Türkoğlu, 2008).

1928 yılında Alexander Fleming, stafilokok varyantları üzerinde çalışmalar yaparken, bir tesadüf sonucunda kültür ortamına bulaşmış bir küf mantarının etrafında stafilokokların çoğalamadıklarını, aksine öldüklerini gözlemlemiştir. Yapılan deneyler sonucunda mantar kültür filtratlarının enfeksiyonlarda birçok bakteriye karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Alexander Fleming, çoğalan küf mantarlarının *Penicillium* türünden meydana gelmelerinden dolayı etkin maddeyi “Penicillin” olarak isimlendirmiş ve böylece antibiyotiğin keşfi Fleming tarafından 1928’de keşfedilmiştir (Topal vd., 2015).

1.3.1.Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotiklerin bakteri hücrelerini nasıl öldürdüğüne dair sorular ilaç-hedef etkileşimi tarafından inhibe edilen temel hücresel fonksiyon üzerine odaklanmaya neden olmaktadır. Antibiyotikler, hücre ölümünü indüklemeleri (bakterisidal) veya yalnızca hücre büyümesini inhibe (bakteriyostatik) etmelerinin yanı sıra etkiledikleri hücresel bileşen veya sisteme göre sınıflandırılabilir. Bakterisidal antibiyotikler DNA sentezini, RNA sentezini, hücre duvarı sentezini veya protein sentezini inhibe ederek etki göstermektedirler (Kohanski vd., 2010). Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler Tablo 1.1’de gösterildiği gibi 5 ana gruba ayrılmaktadırlar (Tenover, 2006).

Tablo 1.1. Hedef bölgelerine göre antimikrobiyallerin sınıflandırılması (Tenover, 2006).

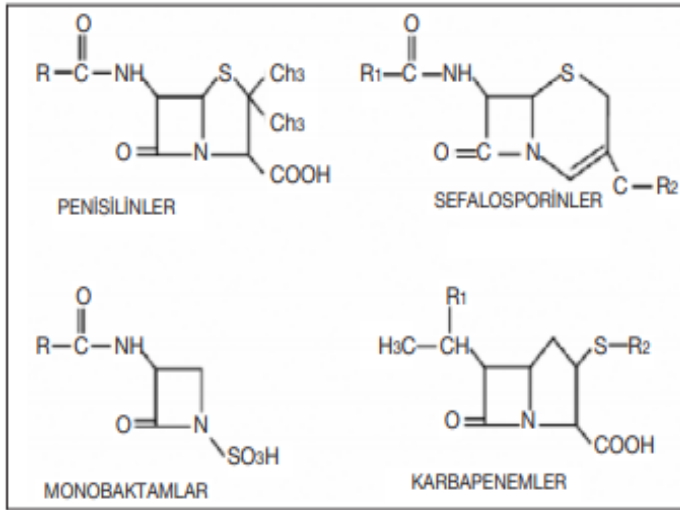
Etki Mekanizması	Hedef	Antibiyotik
Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu	Penisilin bağlama proteinleri, D-alanyl-D-alanin, Muropeptit taşınması	Penisilinler, Sefalosporinler, Karbapenemler, Monobaktamlar, Daptomisin, Glikopeptidler
Protein sentezi inhibisyonu	30S ve 50S ribozom alt üniteleri	Tetrasiklinler, Kloromfenikol, Makrolidler, Aminoglikozidler, Linkosamidler, Oksazolidinonlar, Streptograminler
Nükleik asit sentezi engelleme	DNA giraz, DNA yapısının tamamı, RNA polimeraz	Kinolonlar, Nitroimidazoller, Rifampisin
Bakteri membranının bozulması	Fosfolipit yapısı	Polimiksinler
Folik asit yolunun inhibisyonu	Dihidrofolat redüktaz, Dihidropteroat sentetaz	Sulfonamidler, Trimetoprim

1.3.2. β -laktam Antibiyotikler

1928’de ilk antibiyotik olan penisilin Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş ve penisilin keşfi hastalıkların tedavi edilmesinde dönüm noktası olmuştur (Canzani ve Aldeek, 2017). Günümüzde yaygın olarak kullanılan β -laktam antibiyotikler “beta-laktam” halkası olarak isimlendirilen ortak kimyasal moleküllerle öteki antibiyotiklerden ayrılır. Daha sonra geliştirilen antibiyotiklerin hepsi β -laktam halkasına bağlı aminoasitlerde meydana gelen modifikasyonlar sonucu oluşturulmuştur. β -laktam grubu antibiyotikler genel olarak 4 gruba ayrılmaktadır.

- Penisilinler
- Sefalosporinler
- Karbapenemler
- Monobaktamlar (Öncül, 2002).

β -laktamlar çekirdek halka yapılarına göre sınıflandırılırlar (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. β -laktam antibiyotikler (Çetinkaya, 2008).

1.3.2.1. Penisilinler

Penisilinin ana yapısında, tiazolidin halkası, β -laktam halkası ve bir yan zincir bulunmaktadır. Penisilinler yapay ortamdaki (in vitro) etkilerine göre sınıflandırılırken bazı durumlarda çakışma gösterebilir.

- **Doğal penisilinler:** prokain penisilin G, benzatin penisilin G, penisilin V (Fenoksi metil penisilin), penisilin G, kristalize penisilin G
- **Aminopenisilinler:** ampisilin, amoksisilin, pivampisilin, bakampisilin, siklasilin, episilin, hetasilin
- **Amdinopenisilinler:** pivamdinosilin, amdinosilin
- **Penisilinaza dayanıklı penisilinler:** izaksazolil penisilin, kloksasilin, dikloksasilin, flukloksasilin, oksasilin, metisilin, nafsilin,
- **Pseudomonaslara etkili penisilinler:** karbenisilin, tikarsilin, indanil karbenisilin (korindasilin)
- **Pseudomonaslara Etkili Geniş spektrumlu penisilinler:** piperasilin, azlosilin, mezlosilin
- **β -laktam inhibitörü ile kombine penisilinler:** amoksisilin/klavulanat, ampisilin/sulbaktam, tikarsilin /klavulanat, piperasilin/klavulanat (Sarı, 2005).

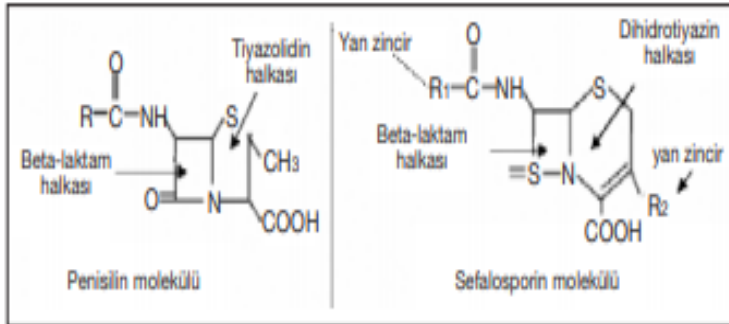
1.3.2.2. Sefalosporinler

Penisilinin keşfinden sonra bilim insanları diğer antibiyotik özellikli moleküllerin bulunmasında çalışmalar yaptılar. Yapılan çalışmaların sonucunda bazılarında antibiyotik özellikli ilaçlar bulunurken bazılarında bulunamamıştır. 1948 yılında Salmonella salgınına karşı araştırma yapan Giuseppe Brotzu, *Cephalosporium acremonium* mantarının Salmonella üremesini önlediğini gözlemledi. Bu gözlemden sonra Oxford Üniversitesi'nde araştırmacı olan Brown ve Abraham tarafından ilk sefalosporin molekülü kristalize olarak laboratuvarında elde edilmiş ve “penisilin-N” olarak adlandırılmıştır (Yıldız vd., 2014).

Sefalosporinlerin β -laktamazlara dirençleri penisilinlerden daha güçlüdür ve sefalosporinler dört kuşaktan meydana gelir. Bu kuşaklar;

- **Birinci Kuşak:** sefadroksil, sefalekssin, sefradin sefalotin sodyum, sefapirin, sefazolin
- **İkinci Kuşak:** sefaklor, seforanid, sefprozil, lorakarbef, sefamandol, sefuroksim aksetil, seforanid ve sefamisinlerin (sefoteten, sefoksitin, sefmetezol)
- **Üçüncü Kuşak:** sefiksim, sefditoren pivoil, seftibuten, sefdinir, sefpodoksım proksetil, seftazidim, sefotaksim, sefoperazon, seftizoksım, seftriakson, moksolaktam
- **Dördüncü Kuşak:** sefpirom, sefepim (Saran ve Karahan, 2010).

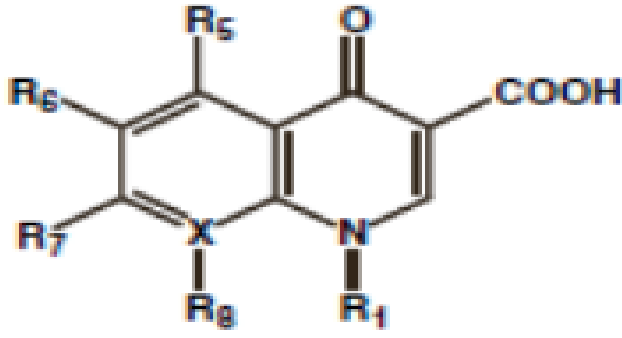
Sefalosporinlerde altı üyeli dihidrotyazın halkası bulunurken penisilinlerde beş üyeli tiyazolidin halkası bulunur (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Penisilin ve sefalosporinlerin temel moleküler yapıları (Çetinkaya, 2008).

1.3.2.3. Karbapenemler

Karbapenemler ilk olarak Streptomyces tarafından keşfedilmiştir. İlk kullanılan karbapenem ise imipenemdir (Bonfiglio vd., 2002). Karbapenemler, çok geniş spektrumlu



Şekil 1. 6.Kinolonların temel yapısı (Van Bambeke vd., 2005).

Kinolonlar klinikte 1962’de nalidik asit formunda kullanılmaya başlanmıştır. Nalidik asitin keşfi malaryanın tedavi sırasında kullanılan klorokinin sentezi ve saflaştırılması esnasında gerçekleşmiştir. Kinolonlar birçok Enterobacteria üyesine bakterisid etkisi olan bir antibiyotik grubudur. İdrarda yüksek konsantrasyon göstermesi sebebiyle üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde tüketilmeye başlanmıştır. 1970 yıllarında kinolon molekülünün C-6’ya bir flor atomu eklenerek ilk florokinolon (norfloksasin) elde edilmiş ve ardından çeşitli eklemeler yapılarak yeni florokinolonlar elde edilmiştir (Nazik ve Öngen, 2010).

1.3.3.1. Kinolonların Etki Mekanizması

Hem DNA topoizomerez IV hem de DNA giraz 2 çift alt birimden oluşan büyük ve karmaşık enzimlerdir. DNA giraz enzimi, gyrA geni tarafından kodlanan GyrA proteini ve gyrB tarafından kodlanan GyrB proteininden meydana gelmektedir. Topoizomerez IV, ParC ve ParE alt birimlerinden meydana gelmektedir. DNA giraz ve DNA topoizomerez IV, DNA’nın replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımında birlikte çalışırlar. Bu iki enzime kinolonlar etki eder ve DNA sentezinin bloke edilmesine neden olur. Gram-negatif bakterilerde DNA giraz, kinolonlar tarafından inhibisyona topoizomerez IV’e göre daha duyarlıdır. Gram-pozitif bakterilerde ise topoizomerez IV asıl hedeftir (Jacoby, 2005).

1.4. Antibiyotik Direnci ve Direnç Mekanizmaları

Bir bakterinin antimikrobiyal ajanların üremeyi durdurucu ve öldürücü etkilerine karşı koyabilme kabiliyetlerine antibiyotik direnci denir. Direnç gelişimi genellikle yaygın

ve yanlış antibiyotik tüketimi ile gerçekleşse de 1940'lı yıllarda antibiyotiğin kullanılmadığı bazı adalarda streptomisin ve tetrasikline dirençli olan bakteriler bulunmuştur. Bunun sonucunda antibiyotik direncinin sadece yaygın ve yanlış antibiyotik tüketimi ile ilişkili olmadığını bunun yanında bakterilerin yaşamlarını devam ettirmek için kullandıkları savunma mekanizmasının bir parçası olduğu belirtilmiştir (Yüce, 2001).

1.4.1. Doğal Direnç

Doğal direnç bir türün tüm suşlarının kimi antibiyotikler tarafından etkilenmemesi durumudur. Doğal dirence sahip olan bakterilerde antibiyotiklerin bağlanma hedef bölgeleri olmayabilir veya antibiyotiklerin kimyasal içeriğindeki farklılıklardan dolayı doğal olarak antibiyotiklere karşı az miktarda geçirgenlik oluşabilir. Örneğin; penisilinin hedef bölgesi bakterinin hücre duvarıdır ve bu nedenle hücre duvarı bulundurmayan bakterilere karşı etki etmesi beklenmez. Ayrıca, diğer bir direnç de antibiyotiğin etki edeceği bakteri hücresine girememesinden dolayı gelişmektedir. Örneğin; makrolidler fazla büyük oldukları için hücre duvarından geçemezler ve stoplazmik hedefe ulaşamazlar. Bu sebeple de gram-negatif bakteriler makrolidlerin etkilerine karşı doğal olarak direnç gösterirler (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

1.4.2 Kazanılmış (Kalıtsal Direnç) Direnç

Sonradan kazanılan dirence kazanılmış direnç denir. Bu direnç tipinde bakteri antimikrobik ajanla etkileşime girdiğinde ilaç bakteri üzerinde etki gösterir, fakat temas sürecinde ya da tekrarlayan tedaviler sonucunda direnç gelişir. Antibiyotiklere direncin temeli budur ve genetik değişiklikler sonucunda seleksiyonla dirençli türler meydana çıkmaktadır.

Genetik direnç; plazmid, kromozom, transpozon kontrolünde gerçekleşmektedir. Kromozomal direnç, kromozomdaki bir mutasyon sonucu oluşan dirençtir. Mutasyonla porin üretiminde meydana gelen bozulma sonucunda bakterinin ilaca geçirgenliği azalabilir, ilacın bağlanmakta olduğu hedefte değişiklik olabilir ya da bakteriyi parçalayan bir enzim sentezlenebilmektedir (kromozomal β -laktamazlar) (Öztürk, 2002). Ekstrakromozomal direnç farklı yollarla aktarılan plazmit, integron ve transpozon olarak tanımlanan genetik elemanlara bağlı olarak gerçekleşir (Yüce, 2001).

Plazmitler bakterilerde kromozom dışı ve çift zincirli bir DNA olarak bulunur (Kuk ve Erensoy, 2008). Transpozonlar bir DNA molekülünden ötekine (kromozomdan plazmide plazmidden kromozoma) geçiş yapabilen DNA dizileri olarak tanımlanmaktadır. Transpozonlar, ampisilin, kloramfenikol, kanamisin, tetrasiklinler ve trimetoprim karşı direnç oluşumundan sorumludurlar (Öztürk, 2002). Plazmidler ve genetik materyallerde direnç genleri bulunmaktadır. Bu direnç genlerinin aktarılması transdüksiyon, transformasyon, transpozisyon ve konjugasyon gibi çeşitli mekanizmalarla sağlanmaktadır (Yüce, 2001). Kazanılmış direnç dört gruptan meydana gelmektedir. Bunlar; hedef molekülün değişimi ile gelişen direnç, antibiyotik inaktivasyonu sonucu gelişen direnç, aktif pompa sistemleri ve hücre duvarı permeabilite değişimi sonucu gelişen direnç ve diğer mekanizmalardır (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

1.4.3. Antibiyotik İnaktivasyonu Sonucu Gelişen Direnç

Antibiyotiğin inaktivasyonu grup transferi, hidrolitik enzimler ve redoks mekanizmalarına bağlı olarak oluşmaktadır. Antibiyotiğin inaktivasyonu nedeniyle direnç kazanılan en önemli antibiyotik grupları β -laktam antibiyotikler ve kloramfenikoldür (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

1.4.4. Hedef Molekülün Değişimi ile Gelişen Direnç

Antibiyotiğin etki gösterebilmesi için bakterideki hedef molekülle birleşmesi ve onun işlevini engellemesi gerekmektedir. Bu nedenle bakteri hücrelerinde antibiyotiklerin hedefi olan moleküller vardır. Bakteri hücresinde bulunan hedef moleküllerin temelinde meydana gelen değişimler antibiyotiğe olan afiniteyi azaltması nedeniyle bakterinin antibiyotik olduğu zamanlarda da çoğalmasına sebep olmaktadır. Kısaca antibiyotiğin hedef bölgesinde meydana gelen modifikasyonlar antibiyotiğin hedefe bağlanmasını engelleyerek direnç oluşturmaktadır (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

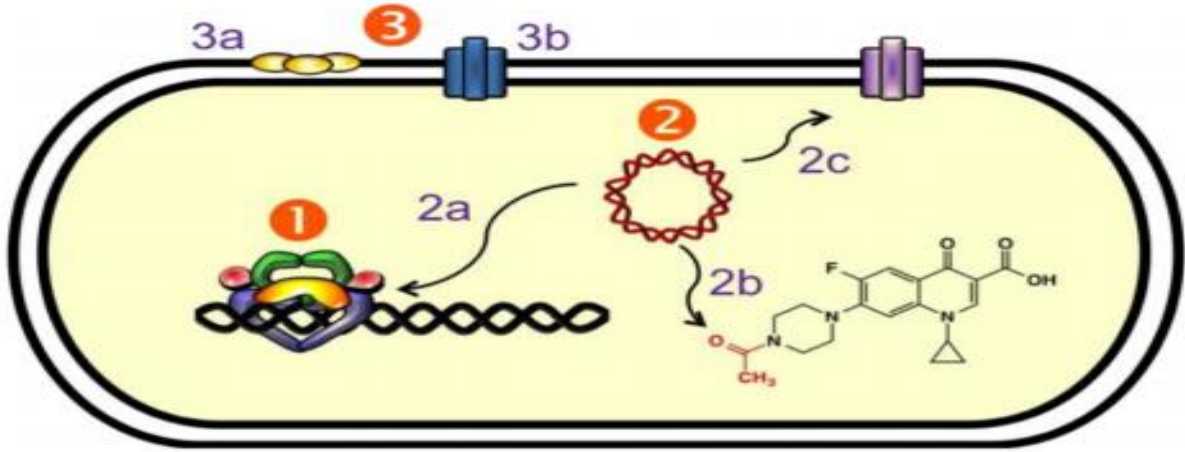
1.4.5. Aktif Pompa Sistemleri ve Hücre Duvarı Permeabilite Değişimi ile Gelişen Direnç

Aktif pompa sisteminin temel çalışma mekanizması antibiyotiğin bakteriye bağlanmasını engelleyerek ilaç konsantrasyon miktarının düşmesine dayalıdır. Bu direnç genini bulunduran plazmitler antibiyotiğin bakteriye bağlanmasını engelleyecek aktif

pompa sistem mekanizmasına sahiptir. Bu direnç oluşumuna neden olan sebepler, membranın antibiyotik geçirgenliğinin azaltılması ya da aktif pompa sisteminin arttırılmasıdır (Meral ve Korukluoğlu, 2014).

1.4.6. Kinolonların Direnç Mekanizması

Kinolon direnci genellikle kromozomal genlerin mutasyonu ile gerçekleşmektedir. Bu mutasyonlar; Topoizomeraz II ile topoizomeraz IV'ü kodlayan genlerdeki nokta mutasyonları ve dış membran difüzyon kanallarında değişikliğe yol açan sitoplazmik membran efluks pompası proteinlerini regüle eden genlerdeki mutasyonlar olmak üzere ikiye ayrılır. Mutasyon sonucu dış membran proteinlerinin üretiminin azalması, kinolonların hücre içine girişinin azalmasına neden olur ve kinolon direncine katkı sağlar. Dış membran proteinlerinin rolünün tam olarak belirlenememesinin nedeni söz konusu olan mutasyonun kinolonların minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerini belirgin olarak değiştirmemesidir. Topoizomeraz mutasyonları kinolonların hedef enzime bağlanma aktivitesini olumsuz etkiler. Tekil mutasyonlar MİK değerini 2-8 kat arttırır ve sınırlı duyarlılığa sebep olur. Tam olarak direnç gerçekleşmesi için birden fazla mutasyon gereklidir (Günel ve Erdem, 2014). Kinolon direnç mekanizmaları Şekil 1.7'de gösterilmektedir.



Şekil 1. 7. Kinolon direnç mekanizmaları (1) Hedef enzimlerde meydana gelen değişiklikler. DNA giraz ile topoizomeraz IV enzimlerindeki mutasyonlar kinolon-enzim etkileşimini zayıflatır (2) Plazmid aracılıklı kinolon direnci (2a) Qnr proteinleri (sarı) topoizomeraz DNA bağlanmasını azaltır enzim-DNA komplekslerini kinolondan korur (2b) Aac(6')-Ib-cr siprofloksasin ve norfloksasin moleküllerinin C7 pozisyonundaki piperazinil halkasında bulunan serbest azotu asetile eden bir aminoglikozit asetiltransferazdır ve bu yolla ilacın etkinliğini azaltır (2c) Plazmid tarafından kodlanan efluks pompaları kinolonların hücrede birikimini azaltır (3) Hücrede kinolon birikiminde azalma (3a) Gram negatif türlerde porinlerin ekspresyonunda azalma ilacın hücre içine alınımını azaltır (3b) Kromozom tarafından kodlanan efluks pompalarının aşırı üretimi hücre içinde ilaç birikimini azaltır (Aldred vd., 2014).

1.4.7. Plazmit Aracılı Kinolon Direnci

Klebsiella pneumoniae'da aktarılabılır kinolon direnci ilk kez 1998 yılında keşfedilmiştir. pMG252 plazmitinde bulunan qnr geni kinolon direncinden sorumludur. 218 aminoasitten meydana gelen penta peptit yapılı protein olan qnr, *E. coli*'de bulunan DNA girazı florokinolonların etkisinden korumaktadır. qnrA, qnrB, qnrC, qnrD ve qnrS qnr geninin analoglarıdır. pMG252 plazmiti, bakterilerin çeşitli antibiyotiklere (ampisilin, nalidik asit, tetrasiklin, kloramfenikol) karşı direnç geliştirmesine neden olur. pMG252 plazmiti konjugasyon yoluyla qnr genini diğer bakterilere aktararak düşük düzeyde bakteri direncine neden olur ve böylece kromozomal mutasyonun oluşmasına zemin hazırlar. Diğer kinolon direncinin oluşmasından sorumlu gen olan aminoglikozid asetiltransferaz geni [aac(6')-Ib]; tobramisin, kanamisin ve amikasinine karşı direnci kodlarken, aminoglikozid asetiltransferaz geninin aac(6')-Ib-cr varyantı siprofloksasin ve norfloksasine karşı direnci kodlar. Aktarılabılır dirence neden olan diğer bir gen kinolon atım pompa geni olan qepA'dır (Cengiz, 2010).

1.5. β -laktamazlar

β -laktamazların temel yapısında β -laktam halkası bulunur ve bu antibiyotik grupları etkilerini hücre duvar sentezini inhibe ederek gerçekleştirirler (Gülay, 2001). İlk β -laktamaz *E. coli*'de, penisilin tıbbi uygulamada kullanılmadan önce keşfedildi. Gram-negatif bakterilerin genelinde β -laktamazlar kromozom kökenli olup doğal olarak bulunur. Gram negatiflerde ilk plazmit aracılı β -laktamaz olarak bilinen TEM-1 1960'larda Yunanistan'da bulunan Temoniera isimli hastadan alınan kan kültüründen izolasyonu yapılan bir *E. coli* suşunda tespit edilmiştir (Bradford, 2001).

1980'lere kadar kullanılan β -laktamlara direnç, SHV-1, TEM-1 ve varyantı TEM-2 olan geniş spekturumlu β -laktamazlar olarak kalmıştır. 1980'li yıllarda ise genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere karşı olarak genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL)'in üretim yanıtı gelmiştir. Yeni ve genişlemiş spektrumlu β -laktam antibiyotikleri hidrolizleyen ilk GSBL enzimi olan SHV-2, Almanya'da bir *Klebsiella ozaenae* suşunda bulunmuştur.

β -laktamazların bulunduğu yıllardan günümüze kadar bir kısır döngü devam etmektedir. Yeni geliştirilen β -laktam antibiyotikler direncin yok edilmesinde kullanılır ancak kullanılmasından kısa zaman sonra oluşturulan yeni antibiyotiğe karşı da direnç

geliştirmek için bakteriler aracılığıyla modifiye edilmiş ve planlanmış yeni bir β -laktamaz üretimi gözlemlenmektedir (Bal, 2003).

1.5.1. β -laktamazların Sınıflandırılması

Ambler tarafından yapılan sınıflandırmada β -laktamazlar A, B, C ve D olmak üzere dört farklı sınıftan meydana gelmektedir. Ambler'in yapmış olduğu moleküler sınıflandırmaya göre yapısal olarak β -laktamazlar, serin (Sınıf A, C ve D) ve metallo- β -laktamazlar (sınıf B) olarak gruplandırılır. Bu iki grup da β -laktamları hidroliz etmektedir ancak katalik mekanizmaları farklılık göstermektedir. Metallo- β -laktamazlar (sınıf B) aktif bölgelerinde Zn^{+2} iyonunu içerirler ve bu Zn^{+2} iyonu katalitik aktivitede önemli yer kaplar. Serin β -laktamazların aktif bölgelerinde ise serin bulunmaktadır. Bush ve Jacoby'nin yapmış olduğu sınıflandırmaya göre β -laktamazların sınıflandırılması substrat/inhibitör üzerine oluşturulmuştur (Bush vd., 1995; Bush ve Jacoby, 2010).

1.5.1.1. AmpC β -Laktamazlar

Gram-negatif basiller genel olarak kromozomal AmpC tipindeki β -laktamazları üretmektedirler. Bu tip β -laktamazlar 1., 2. ve 3. kuşak antibiyotik olan penisilinleri, sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize edebilmektedir. Sefalosporin grubundan olan sefepim, grup1 kromozomal enzimlerin etkilerine ise kısmen dayanıklıdır. β -laktamaz indüksiyonunun olması için bakteri hücrelerinde AmpC, AmpD, AmpG ve AmpR gen bölgeleri olmalıdır. *E.coli*'de AmpR geni bulunmaması nedeniyle bu türde indüklenebilir kromozomal enzimlere rastlanmaz. Plazmit kökenli AmpC tipi β -laktamazların gelişmesi AmpC β -laktamaz genlerinin plazmitlere aktarılması ile gerçekleşmiştir *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarının 3. kuşak sefalosporinlere, β -laktamaz inhibitörlerine ve sefoksitine karşı direnç gösteriyor olması AmpC tipi bir enzimin varlığını düşündürmektedir (Gülay, 2001).

1.5.1.2. Genişlemiş Spektrumlu β -laktamazlar

Üçüncü kuşak sefalosporinler 1980'lerin başında klinikte kullanılmaya başlamıştır ve β -laktamaz kaynaklı antibiyotik direncinin önlenmesinde büyük önem arz etmiştir. 1983'te ise genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri parçalayan plazmit kökenli β -laktamaz ilk kez rapor edilmiştir. β -laktamazı kodlayan genin SHV-1'i kodlayan genden sadece tek nükleotit bir farkı vardır. Kısa bir süre sonra ise TEM-1 ve TEM-2 ile benzerliği olan

ancak genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç gösteren β -laktamazlar keşfedilmiştir. Bu nedenle yeni keşfedilen β -laktamazlar, genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL) olarak adlandırılmıştır (Paterson ve Bonomo, 2005).

SHV: 1970'lerde *E.coli*'de *bla*_{SHV-1} geni ilk olarak tanımlanmıştır (Liakopoulos, 2016). SHV-1 β -laktamazlar en çok *K.pneumoniae* suşlarında bulunmaktadır. *K. pneumoniae*'da plazmit aracılı ampisilin direncinin % 20'sinden SHV tipi enzimler sorumludur. SHV-1'in, TEM'den farklı olarak daha az türevi vardır. SHV-2 enzimi, Almanya'da izole edilen *Klebsiella ozaenae*'nin tek bir suşunda bulunmuştur (Bradford, 2001).

TEM: TEM-1 ilk kez 1965 yılında Yunanistan'daki Temoneira adlı hastadan alınan bir *E. coli* izolatından elde edilmiştir (Paterson ve Bonomo, 2005). TEM-1 gram negatif bakterilerde en sık rastlanan β -laktamazdır (Bradford, 2001). TEM-1 ve TEM-2, TEM tipi genişlemiş spektrumlu β -laktamazlardan türemiştir. TEM-1 ampisilini TEM-1 ampisilini karbenisilin, oksasilin veya sefalotinden daha iyi hidrolize eder ve genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere karşı ihmal edilebilir düzeyde bir aktiviteye sahiptir. Ayrıca klavulanik asit tarafından inhibe edilir (Paterson ve Bonomo, 2005). 1989'da rapor edilen TEM-3 GSBL fenotipini gösteren ilk TEM türevidir (Bradford, 2001).

CTX-M: CTX-M β -laktamazların keşfi 1989 yılında Almanya'da izole edilen *E.coli* suşunda bildirilmiştir ve sefotaksime karşı hidrolitik aktivitesine atıfta bulunmak üzere CTX-M-1 olarak adlandırılmıştır (Bonnet, 2004). CTX-M'e ait günümüzde 5 farklı grup ve 40 farklı çeşit enzim vardır. Bu gruplar CTX-M-1, CTXM-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25 olarak adlandırılmaktadır ve bu gruplar aminoasit dizileri temel alınarak tanımlanmıştır (Deniz Ögeday vd., 2016).

OXA: Oksasilini hidrolize ettikleri için OXA tipi β -laktamazlar olarak tanımlanmaktadırlar. OXA enzimleri fonksiyonel grup olan 2d ve moleküler sınıf D'de bulunmalarından dolayı SHV ve TEM enzimlerinden ayrılmaktadırlar. Çoğunlukla *P. aeruginosa*'da bulunur ancak diğer gram-negatif bakterilerde de bulunmaktadırlar. *E. coli* suşlarında OXA-1 β -laktamaz, % 1-10 oranında bulunmaktadır ve en yaygın olan OXA'dır. OXA-1 ile OXA-10 dahil olmak üzere bunların arasında bulunan enzimler dar spektrumludur. Oksasilin ve kloksasilini substrat olarak tercih etmektedirler. OXA, TEM ve SHV'de görülen aminoasit dizilerindeki nokta mutasyonları nedeniyle oksiminosefalosporinleri hidrolize eden geniş spektrumlu enzimlerdir. OXA-11, OXA-14, OXA-15 ve OXA-16 seftadizim direncine neden olur. OXA-17 ise sefotaksim direncine neden

olmaktadır. OXA-31 sefepime direnç göstermektedir ancak seftazidime duyarlıdır. OXA-24 GSBL türü olarak sınıflandırılmamaktadır. OXA enzimlerinin önemi klavulanik asit ve sulbaktama direnç göstermeleridir (Dağlar ve Öngüt, 2012).

PER: PER enzimi TEM ve SHV enzimleriyle yaklaşık olarak % 25-27 oranlarında benzeşim göstermektedir. PER-1 enzimi klavulanik inhibisyonuna duyarlıdır. PER-1 enzimi sefalosporinleri ve penisilinleri iyi derecede hidroliz etme yeteneğine sahiptir. PER-1 *P. aeruginosa*'da ilk olarak belirlenmiş daha sonra da *S. Enterica*, *Typhimurium* ve *Acinetobacter* izolatlarında saptanmıştır. PER-1, PER-2 ile % 86 homoloji göstermektedir. PER-2, *S. enterica serovar Typhimurium*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *Vibrio cholerae* O1 El Tor'da tespit edilmiştir (Shaikh vd., 2015).

GES: GES, 1998 yılında Fransa'da bir çocuk hastadan izole edilen *Klebsiella pneumoniae*'de tanımlanmıştır. GES-1 β -laktamazlar dar ve geniş spektrumlu sefalosporinleri, seftazidimi ve penisilinleri hidrolize edebilmektedirler ancak aztreonam, sefamisin ve karbapenemleri hidrolize etme yetenekleri düşüktür (Bektaş vd., 2018).

VEB-1, BES-1 ve Diğer GSBL: Plazmit aracılı ya da integronla ilişkili olan çeşitli A sınıfı enzimler yakın zamanda keşfedilmiştir. Bunlar bilinmekte olan β -laktamazların nokta mutant türevleri değildir. VEB-1, PER1 ve PER-2 ile % 38'lik bir homolojiye sahiptir. Klavulanik asit tarafından tersine çevrilen seftazidime, sefotaksim ve aztreonam'a yüksek seviyede direnç göstermektedir. VEB-1'i kodlayan gen plazmit aracılıdır ve bu tür plazmitler β -laktam olmayan antibiyotiklere de direnç göstermektedirler. GES, BES, TLA, SFO ve IBC GSBL'ların diğer örnekleridir ve çok çeşitli coğrafyalarda yayılım göstermektedir (Paterson ve Bonomo, 2005).

1.5.1.3. Metallo- β -laktamazlar (MBL)

Metallo- β -laktamazlar, Bush sınıflandırmasına göre Grup 3'te yer almaktadır ve Ambler sınıflandırmasına göre Sınıf B'de bulunmaktadır. MBL'nin diğer β -laktamazlardan farkı aktif bölgelerinde Zn^{+2} iyonu bulundurmalarıdır. İçerdikleri bu özellikten dolayı Metallo- β -laktamazlar tazobaktam, sulbaktam, klavulanat gibi alışılmış β -laktamaz inhibitörleri tarafından etkilenmezken, etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) tarafından inhibe edilirler. MBL monobaktam dışındaki bütün β -laktamları ve karbapenemleri hidrolize edebilmektedirler (Aytar vd., 2015). 1990'ların başında IMP ve VIM enzimleri tespit edilmiştir ve daha sonra FIM-, SIM-, KHM-, AIM-, DIM-, SPM-, NDM-, SMB-,

İntegronlar direnç integronları ve süper integronlar olarak iki sınıfta incelenmektedir. Direnç integronları kromozom ya da plazmit üzerinde bulunan, genellikle antibiyotiklere ve dezenfektanlara karşı direnci kodlayan gen kasetlerini bulundurur. Çeşitli işlevlere sahip gen kasetleri içeren kromozoma yerleşmiş büyük integronlar süper integronlar grubuna aittir (Fluit ve Schmitz, 2004).

Sınıf 1 integronların temelini, bir 5'- ve 3'- korunmuş bölge (5'-CS ve 3'-CS) ve bir değişken bölge meydana getirir. 5'-CS, promotor bölge (kaset içerisinde bulunan ve ekspresyonun gerçekleştiği yer) ve *intI* geninden (integraz) meydana gelmektedir. 3'-CS ise defektif kuaterner amonyum direnç geni *qacEΔI* ve sülfonamide direnç sağlayan *sulI* geninden meydana gelir. Bu korunmuş bölgeler arasında kalan değişken bölge, antibiyotik direnç gen kasetlerinin girdiği rekombinasyon alanıdır ve 59 baz çiftli *attC* geni taşır. Sınıf 1 integron transpozonlar (Tn 21 vb.) üzerinde bulunurlar. Sınıf 2 integronlar Tn7 transpozonunda bulunur ve dihidrofolat redüktaz gen kaseti taşımaktadır (Çopur Çiçek vd., 2016).

1.7. Bitki Özütlерinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Önemi

Mikro boyutlu canlılara mikroorganizma denir. Halk arasında bu mikroorganizmalara mikrop denilmektedir. Bu mikroorganizmaların her ne kadar zararlı olarak bilinse de % 99'u sağlık açısından zararlı değildir ve çevreye faydası bulunan canlılardır. Bu mikroorganizmaların sadece % 1'lik kısmının patojenik ve hastalık yapıcı etkisi vardır. Hastalık yapıcı mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerine karşı yapılan her türlü olumsuz müdahaleye antimikrobiyal aktivite denilmektedir (Kesici Güler vd., 2015).

Günümüzde çoklu ilaç direncine sahip olan bakterilerin gün geçtikçe artış göstermesi sonucunda antibiyotiklerin etkisini önemli derecede azaltmakta ve tedavinin başarı oranını düşürmektedir. Bu nedenle bilim insanları yeni antibiyotiklerin keşfedilmesinde doğal bitkisel ürünleri tercih etmektedirler (Baldemir vd., 2017).

Bu yüksek lisans tez çalışmasında kullanılan; nane, yeşil çay, ıhlamur, havacıva, biberiye, zerdeçal, sarı kantaron, sarısabır ve ısırgan otu bitkileri aktardan satın alınmış ve bitkilerin metanol özütleri hazırlanmıştır. Bu bitkilerin kullanılmasının sebebi halk arasında tedavi amaçlı kullanılmalarıdır.

1.7.1. Nane (*Mentha piperita* L.)

Ülkemizde nane (*Mentha piperita* L) bitkisi, eskilerden beri tarla, bahçe ve evlerin önü gibi çeşitli alanlarda yetiştirilmektedirler. Nane bitkisi tıbbi olarak halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar. Nane; spazm önleyici ve gaz giderici, mide rahatsızlıklarında kullanılan, serinletici, uyarıcı ve diüretik etkileri olan ayrıca halk arasında baharat ve bitki çayları şeklinde de yaygın olarak kullanılan bir bitkidir (Özgüven ve Kırıcı, 1998). *Mentha piperita* L. Şekil 1.9’da gösterilmektedir.



Şekil 1. 9.Nane (*Mentha piperita* L.)
(Çayır, 2014).

1.7.2. Yeşil Çay (*Camellia sinensis*)

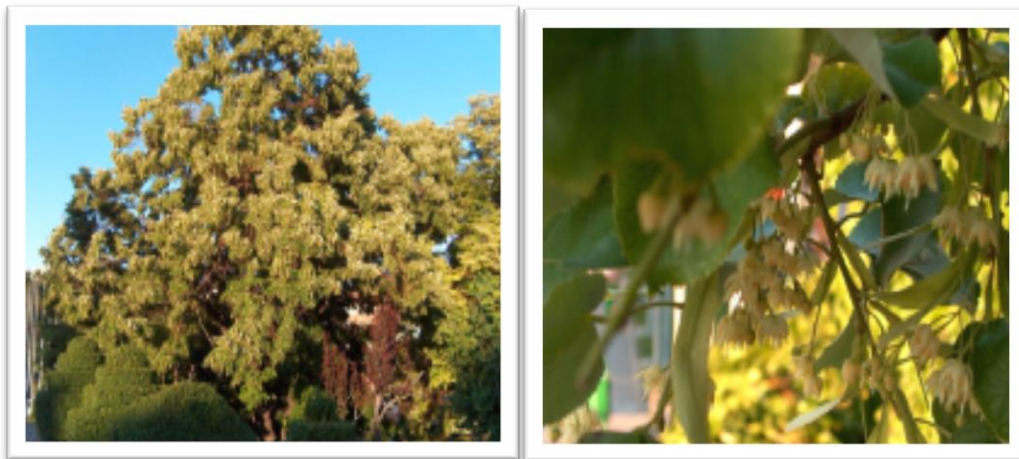
Dünyada yeşil çay üreten ülkelerin başlıcaları; Japonya, Çin, Endonezya, Vietnam, Hindistan ve Sri-Lanka’dır. Bu ülkeler içinde Japonya ve Vietnam’da toplam çay üretiminin % 100’ü yeşil çay olarak işlenmektedir. Dünyada yeşil çay üretiminin yapılmasında iki sistem kullanılmaktadır. Bunlar Japon usulü ve Çin usulü yeşil çay üretimi olarak iki kısma ayrılmaktadırlar (Gökalp ve Çeper, 1990). Yeşil çay, içeriğinde bulunan polifenolik bileşikler bakımından zengindir ve ana bileşeni olarak kateşinleri içermektedirler. Yapılan çalışmalar, kateşinlerin anti-oksidatif, anti-enflamatuar, anti-kanserojen, anti-arteriyosklerotik ve anti-bakteriyel gibi çeşitli farmakolojik özellikleri olduğunu ortaya koymuştur (Koo ve Cho, 2004). Yeşil çay Şekil 1.10’da gösterilmektedir.



Şekil 1. 10.Yeşil Çay (*Camellia sinensis*)
(Aslan ve Orhan, 2010).

1.7.3. Ihlamur (*Tilia tomentosa*)

Ihlamur bitkisi genellikle ağaç, kısmen boylu ve çalı şeklinde olan, yapraklarını kış mevsiminde döken odunsu bir bitkidir çeşitidir. Yaprakların uzun sapları vardır ve yapraklarının ayası yürek biçimindedir. Yapraklarının kenarları genellikle dişli olmakla birlikte nadir olarak da tamdır. Yaprakları sade ya da yıldız tüylüdür. Çiçeklerinin en az üçü bir arada bulunur ve sarkan kurullar oluştururlar. Çiçekleri 5 taç ve 5 çanak yapraktan meydana gelmektedir. Ihlamurun sarımsı rengi ve kendine özgü kokusu vardır (Tuttu vd., 2017). *Tilia tomentosa*'nın yaprak ve çiçekleri Şekil 1.11'de gösterilmektedir.



Şekil 1. 11.*Tilia tomentosa*'nın (ihlamur) yaprak ve çiçek yapısı (URL-1, 2019).

1.7.4. Havacıva (*Alkanna tinctoria*)

Havacıva, Tubiflorea takımında, Boraginaceae (Hodangiller) familyasının *Alkanna* cinsinde yer almaktadır. Yaprakları düz olmakla birlikte kenarları bölümlere ayrılmamıştır. Genel olarak çiçekleri 5 parçadan meydana gelmektedir. Çanakları boru ya da çan şeklinde olur. Nisan ve temmuz aylarında mavi renğinde açan çiçekleri olmakla birlikte boyları 10-30 cm aralığında uzamaktadır. Çok yıllık bir bitki olmakla birlikte otsu karakterlidir. Türkiye’de Akdeniz bölgesinde ve İç Anadolunun bazı kesimlerinde rastlanmaktadır (Kayabaşı vd., 2000). Havacıva, kuraklığa karşı dayanıklıdır. Bitkinin gelişebilmesi için güneşli ya da yarı gölge ortamlar oluşturulmalıdır. Havacıva -10°C’ ye kadar olan soğuklara dayanıklıdır. Havacıvanın köklerinden elde edilen antibakteriyel madde nedeniyle eczacılık alanında kullanımı oldukça yaygındır (Deniz ve Şirin, 2005). Havacıva Şekil 1.12’de gösterilmektedir.



Şekil 1. 12. Havacıva (*Alkanna tinctoria*)
(Sarıkürkcü, 2010).

1.7.5. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.)

Lamiaceae (Labiatae) familyasının bir türü olarak bilinen biberiye, dünyada Fransa’nın güneyinden başlayarak Türkiye’nin de dahil olduğu kuşak üzerinde bulunmakla birlikte Afrika’nın kuzeyindeki Tunus ve Cezayir kıyılarında çoğunlukla Akdeniz makilerinin içerisinde doğal yayılış gösteren önemli bir tıbbi ve aromatik bir bitkidir (Türker vd., 2011). Biberiye küçük iğne yapraklı, boyu 1-2 m aralığında, kış mevsiminde yaprakları dökülmeyen aromatik bir bitki olarak tanımlanmaktadır. Aroması kafur ya da

ökaliptus kokusunu andırır. Çiçeklenme yaz ve ilkbahar mevsimlerinde gerçekleşir ve renkleri beyaz, açık mavi ya da mavidir. *Rosmarinus officinalis* gıdalarda antioksidan veya doğal bir koruyucu olarak kullanılmaktadır. Bunların yanında oda kokusu, deodorant, sabun, parfüm ve losyon üretiminde de kullanılmaktadır (Çoban ve Patır, 2010). *Rosmarinus officinalis* L. Şekil 1.13’de gösterilmektedir.



Şekil 1. 13. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.)
URL-2, 2019

1.7.6. Zerdeçal (*Curcuma Longa*)

Zerdeçal zencefil ailesinden olan büyük yapraklı ve sarı çiçekleri olan bitkidir. Zerdeçal, yumrulu ve çok yıllık olan otsu bir bitkidir. Zerdeçal halk arasında safran kökü, sarıboya, zerdeçav, zerdeçöp hint safranı ve turmerik gibi farklı isimlerle bilinmektedir. Zerdeçalın tadı acı olmakla birlikte polifenolik bir bileşiktir (Çöteli ve Karataş, 2017). Yetiştigi ülkeler başta, Hindistan, Çin, Endonezya, Jamaika, Peru ve Pakistan olmak üzere Asyanın tropik bölgeleridir. Zerdeçal, kumaş ve deri boyamada kullanıldığı gibi kına yakmada renk vermek için kullanılır. Hindistan tıbbında önemli bir yer alan zerdeçal, öksürük, karaciğer rahatsızlıkları, romatizma, sinüzit, nezle ve anoreksia gibi hastalıkların tedavi edilmesinde tüketilmektedir (Çoban ve Patır, 2010). Şekil 1.14’de zerdeçal ve toz hali gösterilmektedir.



Şekil 1. 14. Zerdeçal (*Curcuma Longa*) ve toz hali (Suryawanshi vd., 2017).

1.7.7. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.)

Sarı Kantaron, Clusiaceae familyasında yer almaktadır ve doğal yayılışını Batı Avrupa olmak üzere Kuzey Afrika ve Asya’da göstermektedir (Kaçar ve Azkan, 2005). *Hypericum perforatum* L.; sarı kantaron, binbirdelikotu, kılıçotu, koyunkıran, kanotu, kuzukıran, mayasılotu, yaraotu olmak üzere çeşitli isimlerle adlandırılmaktadır. Dünyada ılıman ve tropik bölgeler boyunca yayılış göstermektedir. Genellikle yol kenarları çimenli nehir kıyıları, bakımsız tarlalarda yetişmektedir (Şekil 1.15). En iyi yetiştirme gösterdiği toprakların özellikleri hafif asidik ve nötr olmalarıdır (Çakmak ve Bayram, 2003).



Şekil 1. 15. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) (Aydemir, 2015).

Sarı kantaronunun antiseptik, antispazmotik, kurt dökücü etkilerini olduğu ve yatıştırıcı olarak kullanıldığı geçmişten günümüze kadar bilinen bilgilerdir. Yapılan çalışmalarda sarı kantaron bitkisinin depresyonu önleyici ve karaciğeri tehlikelere karşı

koruma etkisi olduğu ispatlanmıştır ayrıca ağrı kesici etkisinin de olduğu belirlenmiştir (Bayram vd., 2004).

1.7.8. Sarısabır (*Aloa vera* L.)

Aloa vera L. Liliaceae familyasının bir üyesidir ve kaktüs benzeri özelliklere sahip popüler çok yıllık etli bir bitkidir (Taiwo vd., 2005). *Aloa vera* binlerce yıldır Yunanistan, Mısır, Hindistan, Meksika, Japonya ve Çin’de çeşitli tıbbi amaçlar için kullanılmıştır (Vogler ve Ernst, 1999). Mucizevi bir bitki olarak adlandırılan *Aloa vera*, insanlık tarihinde yüzyıllar boyunca özellikle cilt hastalıklarının tedavisinde, aynı zamanda kabızlık, mide hastalıkları, saç dökülmesi, böbrek hastalığı ve daha birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır (Akev vd., 2015). Şekil 1.16’da sarısabır gösterilmektedir.



Şekil 1. 16. Sarısabır (*Aloa vera* L.)
(Üstü ve Uğurlu, 2017).

1.7.9. Isırgan otu (*Urtica dioica* L.)

1997’de Mabberley, ısırganotugiller familyasında bulunan 48 cins ve 1050 türün listesini çıkarmıştır. Cronquist 1981’de *Urtica* familyasını, çoğunlukla yakıcı tüylü, münferit tohumlu, genelinde sütsü öz içermeyen, basit yaprakları olan ve yabancı tozlaşma yapan özellikleriyle belirtmiştir. Bitki geneline yayılı biçimde bulunan yakıcı tüyler, çubuksu, küresel, yıldızsı ve solucan şeklindedir ve bazı türlerin tespit edilmesinde görev almaktadır (Ayan vd., 2006). *Urtica dioica* L. Şekil 1.17’de gösterilmektedir.



Şekil 1. 17. *Dişi (a) ve erkek (b) çiçekli Urtica dioica* (Ayan vd., 2006).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Gümüşhane Üniversitesi Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Laboratuvarında bu çalışmada kullanılan cihazlar;

- Termal döngü cihazı (Thermo scientific, USA)
- Çalkalayıcı inkübatör (Shel Lab, USA)
- Etüv (Daihan, Türkiye)
- Steril Kabin
- Santrifüj (Allegra, Germany)
- Manyetik karıştırıcı (IKA RH Basic 2, Germany)
- Vorteks (Heidolph, Germany)
- Hassas terazi (Kern ABJ-NM/ABS-N, England)
- Buz makinesi (Scotsman Ice, Italia)
- Elektroforez tankı (Scie-Plas HU10 Mini, England)
- Elektroforez Güç Kaynağı (BIO-RAD, USA)
- UV illüminatör (Herolab, Germany)
- Mikrodalga fırın (Altus, Türkiye)
- Buzdolabı (Beko, Türkiye)
- Distile su cihazı (mes, Türkiye)
- Diktip otoklav (Hirayama, Japan)
- Thermo-Shaker inkübatör (Thermo Scientific, USA)
- Otomatik pipetler (Eppendorf, Germany)
- Erlenmayer, beher, petri, mezür, jel dökme tepsisi ve tarak, öze, deney tüpü ve tüplük kullanıldı.

Gıda Mühendisliği Laboratuvarında bulunan ve çalışmada kullanılan cihazlar şunlardır:

- Rotary evaporatör (Heidolph, Germany)
- Ultrasonik banyo (Bandelin, Germany)
- Rondo (Waring, USA)

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar, Enzimler, Vektörler, Kitler

Kullanılan Kimyasallar: Agaroz (Sigma, USA), Agar (Liofilchem, Italy), gliserol (ADR), dNTP (SolisBiodyn), MgCl₂ (GeneON), Buffer (GeneON), etidyum bromür (PanReac AppliChem, Germany), etanol (Alkomed, Türkiye), Tryptone (Pronadisa, Spain), Yeast Extract (Lab M, United Kingdom), DNA ladder (Promega), X-gal (Sigma), ampicilin, NaCl, KCl, Tris, EDTA, KCO₂CH₃ (Sigma), CaCl₂H₂O (Sigma), IPTG (Sigma).

Kullanılan Enzimler, Kitler ve vektörler: Taq DNA polimeraz (GeneON) enzimi kullanıldı, plazmit DNA izolasyon kiti (Thermo Fisher Scientific, ABD) ve pGEM-T Easy klonlama kiti (Promega Madison, WI USA) kullanıldı.

2.1.3. Besiyerlerinin Hazırlanması

LB (Luria-Bertani): 5 g yeast, 10 g tripton, 5 g NaCl tartılarak 1000 ml saf suda çözüldü. 121°C’de 90 dk süreyle otoklavlanarak steril edildi.

Ampisilinli LB (Luria-Bertani): 10 g tripton, 5 g yeast, 5 g NaCl tartılarak 1000 ml saf suda çözüldü. 120°C’de 90 dk’da otoklav cihazında steril edildi. Sıcaklık 55°C’ye düştükten sonra 1000 µl ampicilin eklendi.

LB (Luria-Bertani) Agar: 5 g yeast, 10 g tripton, 5 g NaCl, 15 g agar tartılarak 1000 ml saf suda çözüldü. 120°C’de 90 dk’da otoklav cihazında steril edildi. Sıcaklık 55°C’ye düştükten sonra petri plaklarına 4 mm kalınlığında dökülerek donduruldu.

Ampisilinli LB (Luria-Bertani) Agar: 10 g tripton, 5 g yeast, 5 g NaCl, 15 g agar tartılarak 1000 ml saf suda çözüldü. 120°C’de 90 dk’da otoklav cihazında steril edildi. Sıcaklık 55°C’ye düştükten sonra 1000 µl ampicilin eklendi ve petri kaplarına 4 mm kalınlığında ampisilinli LB besiyeri döküldü.

2.1.4. Çözeltiler ve Tampon Solüsyonlarının Hazırlanışı

Primer Hazırlama: Stok çözeltiler için liyofilize halde bulunan primerler steril saf su ile hazırlandı. Ependorf tüplere stok çözeltiden 10 µl eklendi ve üzerine 90 µl steril saf su ilave edilerek total konsantrasyonu 10 pmol/µl olacak şekilde primerler hazırlandı. Karışım -20°C’de saklanarak muhafaza edildi.

%1 Agaroz Jel: 0,7 gram agaroz üzerine 70 ml 1X TAE eklendi ve mikrodalga fırında 2 dk bekletildi. 3 µl etidyum bromür eklenerek jel tepsisine aktarıldı.

1X TAE'nin Hazırlanışı: 980 ml steril deiyonize su üzerine 20 ml 50X TAE'den eklenerek hazırlandı.

dNTP hazırlama: Stok dNTP'den 50 µl alınıp üzerine 950 µl steril deiyonize su eklenerek hazırlandı.

2.2. Yöntem

2.2.1. İzolatlarının Temini

Çalışmaya toplam 90 *E.coli* izolatu dahil edildi. Tüm suşlar Kasım 2015-Ağustos 2016 tarihleri arasında Türkiye'de Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden izole edildi. Tüm klinik isolatlar VITEK 2 Kompakt sistemi ile tanımlandı.

2.2.2. İzolatlarının Stoklanması

İzolatlarından birer koloni seçilerek 4 ml'lik antibiyotiksiz Luria-Bertani (LB) besiyerine ekim yapıldı. Gece boyu 37°C'de etüvde bekletildi. Bakteriyel süspansiyonların 800 µl'si alınarak içerisinde 200 µl gliserol olan ependorf tüpe aktarıldı ve stoklar -20°C'de saklandı.

2.2.3. DNA İzolasyonu

3 ml gece kültürü 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte kalan süpernatant kısmı döküldü. Pellete 1000 µl saf su eklendi ve vortekslendi. Daha sonra 10.000 rpm'de 2 dk daha santrifüj işlemine tabi tutuldu. Pelletin üzerine 1000 µl saf su eklenerek vortekslendi. Vortekslendikten sonra 10 dk kaynatıldı. 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi ve tüpün üst kısmından 500 µl DNA alınıp yeni tüplere aktarılarak stoklar -20°C'de saklandı.

2.2.4. İzolatlarda Antibiyotik Direnç Determinantlarının, Virülans Faktör Genlerinin ve Sınıf 1 İntegronların PZR İle Taranması

1.5 ünite Taq DNA polimeraz (GeneON) , 5 µl genomik DNA, 10 µl DNA polimeraz tamponu, 4 µl 2.5 mM her bir dNTP, 2 µl her bir primer stoku (20 pmol/µl), 3 µl 25 mM MgCl₂ ve son hacim steril deiyonize su ile 50 µl olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon büyüklükleri ve çalışmada kullanılan primerler Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Çalışmada kullanılan virülans faktör genleri primer sıralaması Tablo 2.2’de gösterilmiştir. Bu çalışma da GES, VEB, PER-2, IMP, VIM, CTX-M-1, CTX-M-2, TEM, SHV, NDM, OXA-48, KPC β -laktamaz kodlayan genler ve *hly*, *pap*, *sfa*, *aer*, *cnf*, *afa*, *fim* virülans faktör genleri araştırılmıştır.

Tablo 2. 1. Çalışmada kullanılan Primerler

primer	5'-3'	Amplifikasyon Büyüküğü	Tm	Kaynaklar
GES	F:ATGCGCTTCATTCACGCAC R:CTATTTGTCCGTGCTCAGGA	863	56	Moubarec vd., 2009
VEB	F:ATTTCCCGATGCAAAGCGT R:TTATTCCGGAAGTCCCTGT	542	55	Moubarec vd., 2009
PER-2	F:ATGAATGTCATCACAAAATG R:TCAATCCGGACTCACT	927	50	Celenza vd., 2006
IMP	F:CATGGTTTGGTGGTTCTTGT R:ATAATTTGGCGGACTTTGGC	488	56	Jeon vd., 2005
VIM	F:ATTGGTCTATTTGACCGCGTC R:TGCTACTCAACGACTGAGCG	780	58	Jeon vd., 2005
CTXM-1 grup	F:GCGTGATAACCACTTCACCTC R:TGAAGTAAGTGACCAGAATC	260	50	Xu vd., 2005
CTXM-2 grup	F:TGATACCACCACGCCGCTC R:TATTGCATCAGAAACCGTGGG	341	50	Xu vd., 2005
TEM	F:AGTATTCAACATTTYCGTGT R:TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	860	49	Çopur Çicek vd., 2013
SHV	F: ATGCGTTATATTCGCCTGTG R: TTAGCGTTGCCAGTGCTC	843	55	Çopur Çicek vd., 2013
NDM	F:TGGAATTGCCCAATATTATGC R:TCAGCGCAGCTTGTCGGCCATGC	813	54	Özad Düzgün vd., 2019
OXA-48	F: ATTGGTGGCATCGATTATCGG R: GAGCACTTCTTTTGTGATGGCOA	743	57	Poirel vd., 2012
KPC	F: CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG R: CTTGTCATCCTTGTTAGGCG	798	52	Bina vd., 2015
Sıf1 İntegron	F:GGCATCCAAGCAGCAAG R:AAGCAGACTTGACCTGA	Değişken	55	Çopur Çicek vd., 2013

Tablo 2.1. (Devamı)

QnrS	F: ACGACATTCGTCAACTGCAA R: TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	428	54	Vasilaki vd, 2008
QnrA	F: AGAGGATTTCTCACGCCAGG R: CCAGGCACAGATCTTGAC	580	54	Vasilaki vd, 2008
QnrB	F: GGMATHGAAATTCGCCACTG R: TTTGCYGYCYGCCAGTCGAA	64	54	Vasilaki vd, 2008
fosA	F: ATCTGTGGGTCTGCCTGTCGT R: ATGCCCCGCATAGGGCTTCT	271	50	Benzerara vd., 2017
fosC2	F: TGGAGGCTACTTGGATTTG R: AGGCTACCGCTATGGATTT	209	50	Benzerara vd., 2017
fosA3	F: GCGTCAAGCCTGGCATT R: GCCGTCAGGGTCGAGAAA	221	55	Benzerara vd., 2017

Tablo 2. 2. Virölans Faktör Genlerini Çoğaltmak için Kullanılan Primerler

Primer	5'-3'	Amplikon Büyükliği
<i>pap3</i>	GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCAT	336
<i>pap4</i>	AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA	
<i>hly1</i>	AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT	1177
<i>hly2</i>	ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA	
<i>aer1</i>	TACCGGATTGTCATATGCAGACCGT	602
<i>aer2</i>	AATATCTTCCTCCAGTCCGGAGAAG	
<i>cnf1</i>	AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG	498
<i>cnf2</i>	CATTGAGAGTCCTGCCCTCATTATT	
<i>sfa1</i>	CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC	410
<i>sfa2</i>	CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA	
<i>afa1</i>	CGGCTTTTCTGCTGAACTGGCAGGC	672
<i>afa2</i>	CCGTCAGCCCCCACGGCAGACC	
<i>fim1</i>	GTTGATCAAACCGTTCAG	331
<i>fim2</i>	AATAACGCGCCTGGAACG	

2.2.5. AgaroZ Jel Elektrofözezi ve Görüntüleme

PZR ürünlerinin değeriendirilmesi agaroZ jel elektrofözezi ile yapıldı. 5 µg/ml etidyum bromür içeren % 1'lik agaroZ jel hazırlandı. PZR ürünlerinden 7 µl otomatik pipetle alındı ve 3 µl yükleme tamponu ile pipetaj yapılarak jeldeki kuyucuklara yükleme yapıldı. Örnekler 90 voltta marker iyice açılana kadar yürütüldü. Jel UV'de gözlemlendi.

2.2.6. Kompetent Hücrelerin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan *E. coli DH5α* kompetent hücreler kalsiyum klorür yöntemi takip edilerek hazırlandı. Öze ile 3 ml LB besiyerine 1 gece önceden tek bir koloni seçilerek ekim yapıldı ve sıvı kültürü gece boyunca 37°C'de 200 rpm'de sallanarak büyüldü. Hazırlanan gece kültürünün yoğunluğu 600 nm'de ölçülerek belirlendi ve OD'si 0.1 olacak şekilde yeniden 30 ml LB besiyerine ekildi. Optik yoğunluk 600 nm'de 0.4–0.6 arasına ulaşınca hücreler 4°C'de 4000 rpm'de 5 dk boyunca santrifüj edilerek toplandı ve süpernatant atıldı. Hücre pelleti 10 ml soğuk 0.1 M CaCl₂ ilave edilerek çözünmesi sağlandı ve 30 dk buz içinde muhafaza edildi. Sonrasında 4°C'de 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve pellet 2 ml 0.1 M CaCl₂ çözeltisinde süspanse edilerek 200 µl hacimlerde steril ependorflara bölünerek kullanıldı.

2.2.7. PZR Sonucunda Pozitif Çıkan Sınıf 1 İntegronların pGEM-T Easy Vektörüne Klonlanması

PZR ürünlerinin, pGEM-T vektörüne T:A klonlaması yapılırken protokoldeki kurallar uygulandı. Ligasyon toplam hacim 4 µl olacak şekilde, 0.2 µl pGEM-T vektör, 1.6 µl insert DNA, 2 µl 10X T4 ligaz tamponu ve 0.2 µl T4 DNA ligaz 15°C'de bir gece boyunca inkübe edildi. Ligasyon ürünleri *E.coli DH5α* kompetentine kimyasal yöntemle transfer edildi. Transferlerin seçimi mavi-beyaz koloni tekniğine göre uygulandı. Bunun için 50 µg/ml ampisilinli LB agar besiyerine 40 µl IPTG (100 mM stok) ve 40 µl X-Gal (stok 40 mg/ml) yayıldı. Daha sonra transformasyonu gerçekleşmiş olan beyaz kolonilerden yalnızca 1 tane seçilerek ekim yapıldı ve bir gece 37°C'de etüvde inkübasyona bırakıldı. Kültür 13.000 rpm'de 2 dk'da santrifüj edildi ve bakteri pelletinden plazmit DNA izolasyon işlemi yapıldı. Plazmitler % 1'lik agaroZ jel elektrofözezinde görüntümlandendi ve baz dizin analizi için gönderildi. Baz dizin analiz sonuçları biyoinformatik programlar kullanılarak analiz edildi.

2.2.9. Bazı Bitki Ekstrelerinin Kinolon Dirençli İzolatlar Üzerine Etkisinin Araştırılması

2.2.9.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Temini

Yaptığımız bu çalışmada kullanılan bitkiler (Tablo 2.3) Trabzon ilinde bulunan aktardan kuru ve öğütülmüş olarak satın alınmıştır. Çalışmada kullanılan bitkiler halk arasında tıbbi açıdan yaygın olarak kullanılmaları nedeniyle tercih edilmiştir.

Tablo 2. 3. Çalışmada kullanılan bitkiler ve Latince adları

BİTKİNİN ADI	LATİNCE ADI
Nane	<i>Mentha piperita L.</i>
Yeşil çay	<i>Camellia sinensis</i>
İhlamur	<i>Tilia tomentosa</i>
Havacıva	<i>Alkanna tinctoria</i>
Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>
Isırgan otu	<i>Urtica dioica L</i>
Zerdeçal	<i>Curcuma longa</i>
Sarı Kantaron	<i>Hypericum perforatum</i>
Sarısabır	<i>Aloe vera (L.)</i>

2.2.9.2. Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Kullanılan bitkiler aktardan kuru ve öğütülmüş olarak satın alınmıştır. Bitki numunelerinin kuruluklarından emin olabilmek için 7 gün boyunca aralıklarla tartılarak etüvde kurutulmuştur. Daha sonra toz haline getirilen bitkilerin her birinden 10'ar g alınarak 100 ml çözücü (metanol) ile iki saat manyetik karıştırıcıda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemi sonunda bitki özütleri önce mavi bantlı süzgeç kâğıdından daha sonra ikinci aşamada ise 0.25 µM'lık filtrelerden süzüldü. Berrak hale getirilen bitki özütleri cam balonlara alınarak rotary evaporatörde çözücülerini tamamen uçurularak, her biri belirli hacimlerde metanol ile çözülerek konsantrasyonları belirlendi (Tablo 2.4). Bitki özütlerinin analizi yapılana kadar serin ve karanlık bir ortamda bekletildi.

Tablo 2.4. Çalışmada kullanılan bitki özütlerinin konsantrasyonları

BİTKİNİN ADI	LATİNCE ADI	KONSANTRASYONU
Nane	<i>Mentha piperita L.</i>	(30 mg/ml)
Yeşil çay	<i>Camellia sinensis</i>	(40 mg/ml)
İhlamur	<i>Tilia tomentosa</i>	(23 mg/ml)
Havacıva	<i>Alkanna tinctoria</i>	(10 mg/ml)
Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	(60 mg/ml)
Isırgan otu	<i>Urtica dioica L.</i>	(70 mg/ml)
Zerdeçal	<i>Curcuma longa</i>	(40 mg/ml)
Sarı Kantaron	<i>Hypericum perforatum</i>	(80 mg/ml)
Sarısabır	<i>Aloe vera (L.)</i>	(201 mg/ml)

2.2.9.3. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi İle Bitki Özütlerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

90 *E. coli* izolatında plazmid aracılı kinolon direnç genleri PZR yöntemiyle belirlenerek 90 izolat arasında taşıdığı direnç genlerine göre 4 farklı suş çalışmada kullanıldı (EC 58, EC 85, EC 50, EC 90). Minimum inhibitör konsantrasyonlarını belirlemek için sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Deneyler 96 well-plate kullanılarak üç tekrarlı halinde yapıldı. Kinolon dirençli izolatlar 37°C’de LB besiyerinde üretildi. 12. kuyucuk hariç her kuyucuğa 50 µl LB konuldu. 12. kuyucuğa 100 µl LB eklendi ve bu kuyucuk sterilite kontrolü olarak değerlendirilecektir. Ayrıca, 11. kuyucuk büyüme (50 µl LB+50 µl bakteri) kontrolü olarak değerlendirildi. İlk kuyucuğa bitki özütlerinin ilk konsantrasyonundan 50 µl alınarak 10. kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıldı. Plateler 37°C’de inkübe edildi. Özütlerin suşları inhibe ettiği ilk konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi.

3. BULGULAR

3.1. İzolatların Temini ve Tanımlanması

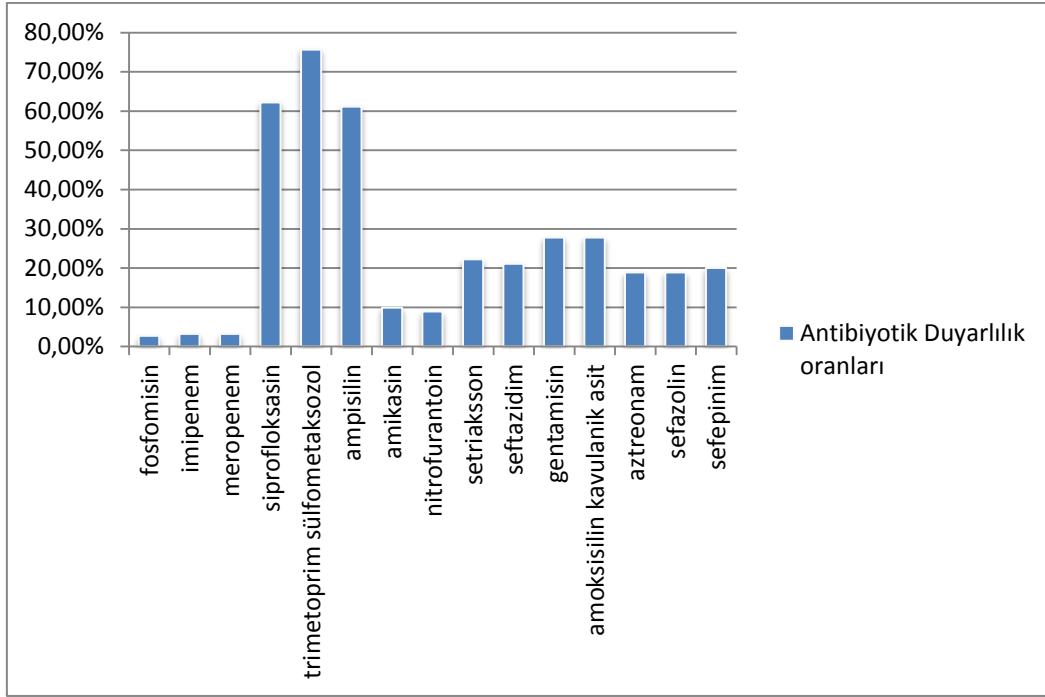
Kasım 2015-Ağustos 2016 yılları arasında Türkiye’de Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nden toplum kökenli İYE tanısı konan 90 hastanın idrar örneklerinden izole edilen 90 *E. coli* izolatı çalışmaya dahil edildi.

3.2. İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları

İzolatların; Fosfomisin, İmipenem, Meropenem, Siprofloksasin, Trimetoprim Sülfometaksozol, Ampisilin, Amikasin, Nitrofurantoin, Seftriaksson, Seftazidim, Gentamisin, Amoksisilin ile Klavulanik asit, Aztreonam, Sefazolin ve Sefepimin antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları VITEK 2 Compact otomatize sistemi kullanılarak belirlendi.

3.3. *E. coli* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

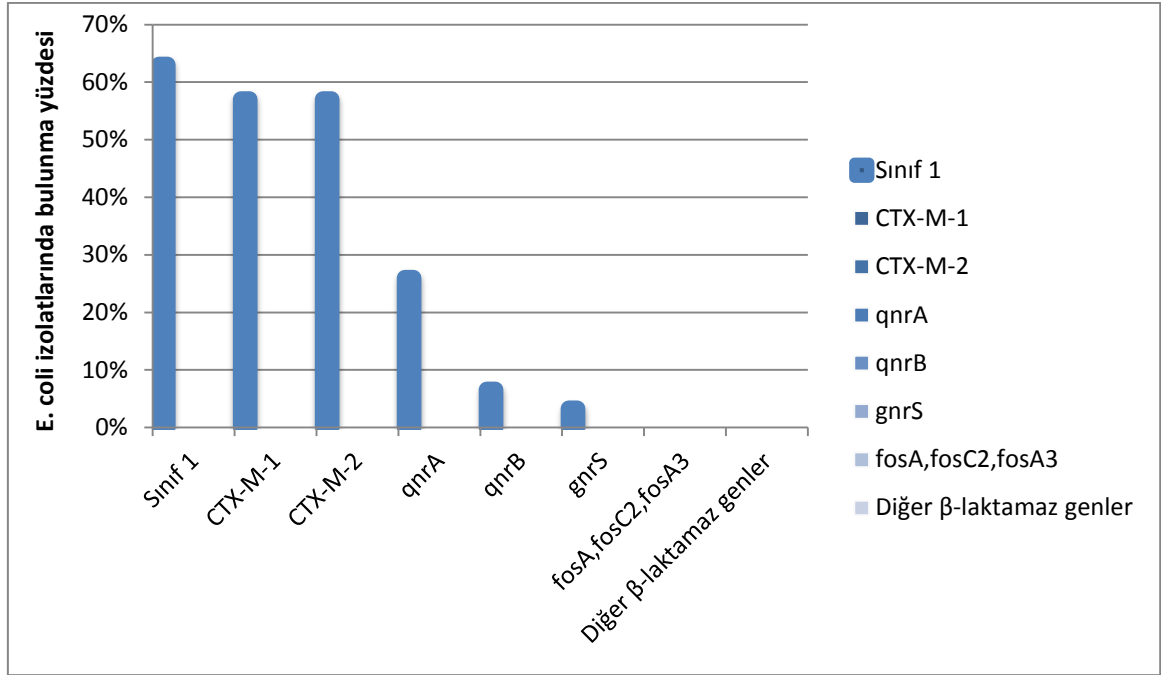
Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları, bu izolatların fosfomisin (% 2.7), imipenem (% 3.2) ve meropenem (% 3.2) için düşük direnç oranlarına sahip olduğu ortaya konmuştur. Ancak, siprofloksasin (% 62.2), trimetoprim sülfometaksozol (% 75.6) ve ampisilin (% 61.1) direnç oranları yüksektir. Amikasin, nitrofurantoin, seftriaksson, seftazidim, gentamisin, amoksisilin ile klavulanik asit, aztreonam, sefazolin ve sefepimin’e karşı direnç oranları sırasıyla; % 9.9, % 8.9, % 22.2, % 21.1 % 27.8, % 27.8, % 18.9, % 18.9 ve % 20.0 olarak bulundu. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarının Şekil 3.1’de gösterilmektedir.



Şekil 3. 1. *E. coli* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

3.4. β -laktamaz Genlerinin, Virölans Faktör Genlerinin ve Sınıf 1 İntegronların Belirlenmesi

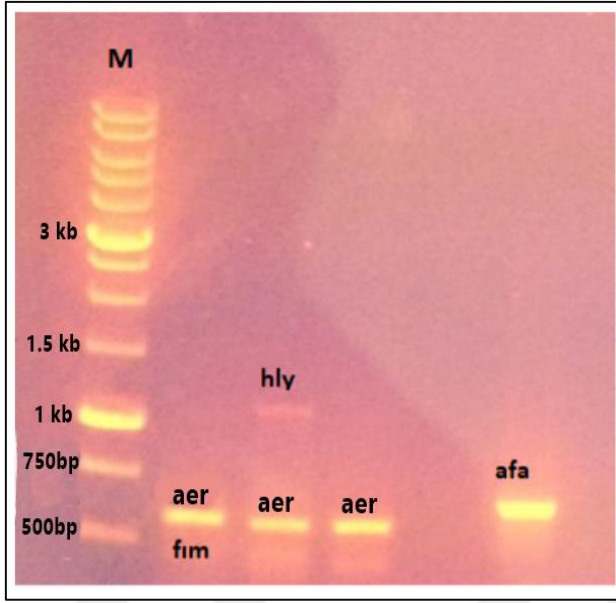
PZR sonuçları, suşları % 63'ünün (57/90) sınıf 1 integron gen kasetlerini taşıdığını ortaya koymuştur. Ayrıca GSBL prevalansının yüksek olduğu gözlemlendi. CTX-M-2 grubu β -laktamaz taşıyan 52 izolat (% 57) ve CTX-M-1 grubu β -laktamaz taşıyan 52 izolat (% 57) tespit edildi. Diğer β -laktamaz genleri (*bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{GES}*, *bla_{SIM}*, *bla_{AmpC}* ve *bla_{SPM}*) tanımlanmamıştır. Ayrıca plazmit aracılı kinolon direç genleri olan *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* suşları sırasıyla, % 26 (24/90), % 6.6 (6/90) ve % 3.3'ü (3/90) oranlarında tespit edildi. Fosfomisin dirençli genlerinin (*fosA*, *fosC2*, *fosA3*) varlığı hiçbir suşta görülmemiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. β-laktamaz genler ve integronların prevalansı

Bu çalışmada 7 farklı virülans faktör geni araştırılmıştır ve en yaygın olarak *fim* (% 82.2) tipi virülans faktör geni görülmüştür. *afa*, *cnf1*, *hly* ve *aer* virülans faktör genlerinin suşlarda sırasıyla % 16.6, % 16.6, % 3, % 36.6 oranlarında tespit edilmiştir (Şekil 3.3). Ayrıca *sfa* ve *pap* genlerinin varlığına ise rastlanılmamıştır. 11 farklı virülans faktör gen paterni tespit edilmiştir. Suşlar da görülen virülans faktör gen paterni sırasıyla, *afa-aer-fim* 6 (% 6.7), *fim* 35 (% 38.9), *aer-fim* 12 (% 13.3), *afa-fim* 6 (% 6.7), *hly-fim* 1 (% 1.1), *afa-aer-cnffim* 1 (% 1.1), *hly-aer-cnffim*, 2 (% 2.2), *aer-cnffim* 10 (% 11.1), *aer-cnffim* 1 (% 1.1), *afa-aer* 1 (% 1.1) ve *afa-cnffim* 1 (% 1.1) olarak bulunmuştur.

Virülans faktörlerinin prevalansı sınıf 1 integronları, *bla*_{CTXM-1}, *bla*_{CTXM-2}, *qnrS*, *qnrA* ve *qnrB* izolatları arasında farklılık göstermiştir (Tablo 3.1).



Şekil 3. 3. Virulans faktör genleri jel görüntüsü.

Tablo 3. 1. Suşlarda virülans faktörü ve antibiyotik direnç genlerinin prevalansı.

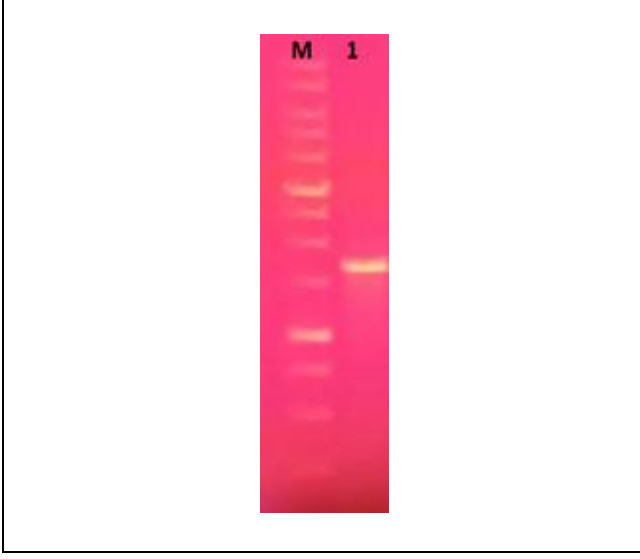
Antibiyotik direnç genleri ve integronları	Virülans gen faktörleri				
	<i>Afa</i>	<i>hly</i>	<i>aer</i>	<i>cnf</i>	<i>Fim</i>
Sınıf 1 integron (57)	9	3	25	11	48
<i>bla</i> _{CTXM-1} (52)	7	-	11	7	42
<i>bla</i> _{CTXM-2} (52)	7	-	16	7	44
<i>qnrS</i> (3)	-	-	-	-	2
<i>qnrA</i> (24)	4	1	12	3	23
<i>qnrB</i> (6)	1	1	1	1	4

90 *E. coli* izolatı arasında 11 farklı virülans faktör paterni tespit edildi. En yaygın virülans faktörü olarak *fim* (35 izolatta) belirlenirken, *hly-fim*, *afa-aer-cnf-fim*, *aer-cnf*, *afa-aer* ve *afa-cnf-fim* daha az yaygın olduğu görüldü. İzolatların 14'ünde virülans faktörü saptanmadı (Tablo 3.2).

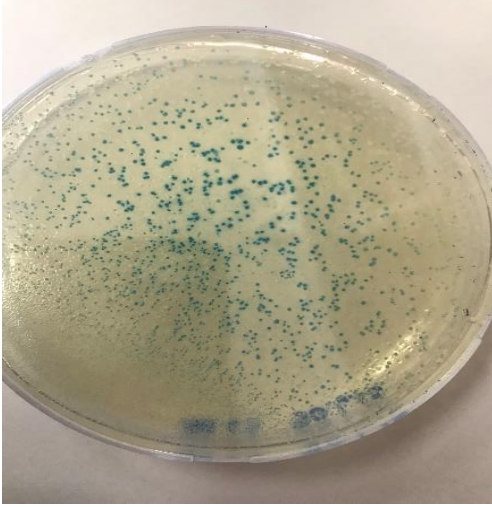
Tablo 3.2. 90 *E. coli* izolatlarında virölans modellerinin prevalansı

Suş kodu	Virölans paterni	İzolot sayısı
E1	<i>afa-aer-fim</i>	6 (% 6.7)
E2	<i>Fim</i>	35 (% 38.9)
E3	<i>aer-fim</i>	12 (% 13.3)
E4	<i>afa-fim</i>	6 (% 6.7)
E5	<i>hly-fim</i>	1 (% 1.1)
E6	<i>afa-aer-cnɤ-fim</i>	1 (% 1.1)
E7	<i>hly-aer-cnɤ-fim</i>	2 (% 2.2)
E8	<i>aer-cnɤ-fim</i>	10 (% 11.1)
E9	<i>aer-cnɤ</i>	1 (% 1.1)
E10	<i>afa-aer</i>	1 (% 1.1)
E11	<i>afa-cnɤ-fim</i>	1 (% 1.1)
	Virölans faktörü yok	14 (% 15.6)

Sınıf 1 integron taşıdığı tespit edilen örnekler vektöre klonlanmış ve pozitif örnekler seçilerek (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5) DNA dizi analizine gönderilmiştir.



Şekil 3.4. İntegron pozitif örneğin jel görüntüsü
(M: Marker, 1: bir numaralı örnek)



Şekil 3.5. Mavi-beyaz koloni oluşumu

Biyoinformatik programlar kullanılarak genin nükleotid ve aminoasit dizileri elde edilmiştir (Şekil 3.6 ve Şekil 3.7). Elde edilen sonuçlara göre sınıf 1 integronun *dhfr* gen kaseti taşıdığı belirlenmiştir.


```

GTTGTACCTCCCAAGGCGTTGGGAGCTCTCCCATATGGTCGACCTGCAGGCGGCCGCGAATTCAGTAGGAAGG
GGTCCAAGCAGCAAGCGCGTTACGCCGTGGGTCGATGTTTGATGTTATGGAGCAGCAACGATGTTACGCAGCA
GGGCAGTCGCCCTAAAACAAAGTTAGCCATTAAGGGAGTTAAATTGAAAATATTATTGATTTCTGCAGTGTC
GAAAATGGCGTAATCGGTAGTGGTCTGATATCCCGTGGTCAGTAAAAGGTGAGCAACTACTCTTTAAAGCGC
TCACATATAATCAATGGCTCCTTGTCGGAAGAAGAACATTTGACTCTATGGGTGTTCTTCCAAATCGCAAATA
TGCAGTAGTGTCAAAGAACGGAATTTCAAGCTCAAATGAAAACGTCCTAGTTTTTCTTCAATAGAAAATGCT
TTGAAAGAGCTATCAAAAGTTACAGATCATGTATATGTCTCTGGCGGGGGTCAAATCTATAATAGCCTTATTG
AAAAAGCAGATATAATTCATTTGTCTACTGTTTCACGTTGAAGTCGAAAGGTGATATCAAATTCCTATAATGCC
TGAGAATTTCAATTTGGTTTTTGAACAGTTTTTTATGTCTAATAAATTATACATACCAGATTTGGAAAAA
GGCTAACAAATGCGTTGCAGCACCAGTCGCTTCGCTCCTTGGACAGCTTTTAAGTCGCGTCTTTGTGGTTTTGC
TGCGCAAAAGTATTCCACAAAGCCGCAACTTAAAAGCTGCCGCTGAACCTTAACGTTAGGCATCATGGGTGAAT
TTTTTCCCTGCACAAGTTTTTCAAGCAGCTGTCCACGCTCGCGCGGTGATCGAGCGCCATCTGGCTGCGACA
CTGGGACACCAATTCACCTTGT

```

Şekil 3.6. Genin nükleotid dizisi

```

VPPKALGALPYGRPAGGREFTRKGSKQQARYAVGRCLMLWSNDVTQQGSRPKTKLAIK
GVKLKILLISAVSENGVIGSGPDI PWSVKGEQLLFKALTYNQWLLVGRRTFDSMGVLPNR
KYAVVSKNGISSNENVLVFPSEIENALKELSKVTDHVVVSGGGQIYNSLIEKADIIHLST
HVEVEGDIKFPIMPENFNLVFEQFFMSNINITYQIWKKG

```

Şekil 3.7. Aminoasit dizisi

3.5. Bazı Bitki Özütlerinin Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Kinolon Dirençli *E. coli* İzolatları Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

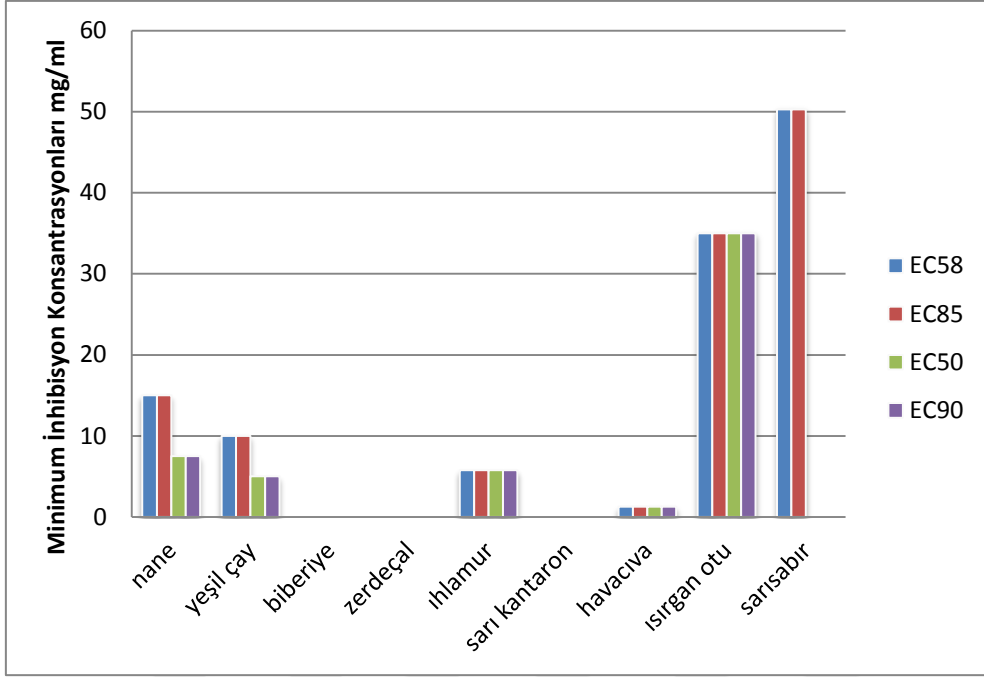
Çalışmada kullanılan; biberiye, zerdeçal, sarı kantaron, nane, yeşil çay, ıhlamur, hava cıva, sarısabır ve ısırgan otu aktardan satın alındı ve bitkilerin metanol ekstraktları hazırlandı. Bu bitki özütlerinin, antibiyotik direnç profili ve taşıdığı antibiyotik direnç genleri belirlenmiş olan 4 farklı dirençli izolat olan EC 58, EC 85, EC 50, EC 90 üzerindeki etkileri incelendi.

Yapılan çalışma sonucunda; *Rosmarinus officinalis* L. (Biberiye), *Curcuma longa* (Zerdeçal) ve *Hypericum perforatum* (Sarı Kantaron) özütlerinin hiçbir suşun büyümesini inhibe etmediği görüldü. *Mentha Piperita* L. (Nane) bitki özütlerinin EC 58, EC 85 suşlarına karşı MİK değeri 15 mg/ml ve EC 50, EC 90 suşlarına karşı MİK değeri ise 7.5

mg/ml olarak tespit edildi. *Camellia sinensis* (Yeşil Çay) bitki özütlerinin EC 58, EC 85 suşlarına karşı MİK değeri 10 mg/ml ve EC 50, EC 90 suşlarına karşı MİK değeri 5 mg/ml olarak tespit edildi. *Tilia tomentosa* (Ihlamur) bitki özütlerinin EC 58, EC 85, EC 50, EC 90 suşlarına karşı MİK değeri 5.75 mg/ml olarak tespit edildi. *Alkanna tinctoria* (Havacıva) bitki özütlerinin EC 58, EC 85 suşlarına karşı MİK değeri 1.25 mg/ml ve bitki özütlerinin EC 50, EC 90 suşlarına karşı MİK değeri 2.5 mg/ml olarak tespit edildi. *Urtica dioica* L.(ısırgan otu) bitki özütlerinin EC 58, EC 85, EC 50, EC 90 suşlarına karşı MİK değeri 35 mg/ml olarak tespit edildi. *Aloe vera* (L.) bitki ekstraktının EC 58, EC 85 suşlarına karşı MİK değeri 50.25 mg/ml olarak bulunmuş ancak diğer suşları inhibe etmediği tespit edildi. Bitki özütlerinin suşlar üzerindeki MİK değerleri Tablo 3.3 ve Şekil 3.8’de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Belirlenen Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları

Bitkilerin adı	Özütlerin Konsantrasyonu	EC58	EC85	EC50	EC90
<i>Menta piperita</i> L. (Nane)	30 mg/ml	15 mg/ml	15 mg/ml	7.5 mg/ml	7.5 mg/ml
<i>Camelia sinensis</i> (Yeşil çay)	40 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml	5 mg/ml
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Biberiye)	60 mg/ml	-	-	-	-
<i>Curcuma longa</i> (Zerdeçal)	40 mg/ml	-	-	-	-
<i>Tilia tomentosa</i> (Ihlamur)	23 mg/ml	5.75 mg/ml	5.75 mg/ml	5.75 mg/ml	5.75 mg/ml
<i>Hypericum perforatum</i> (Sarı kantaron)	80 mg/ml	-	-	-	-
<i>Alkanna tinctoria</i> (Havacıva)	10 mg/ml	1.25 mg/ml	1.25 mg/ml	2.5 mg/ml	2.5 mg/ml
<i>Urtica dioica</i> L. (Isırgan otu)	70 mg/ml	35 mg/ml	35 mg/ml	35 mg/ml	35 mg/ml
<i>Aloe vera</i> L. (Sarisabır)	201 mg/ml	50.25 mg/ml	50.25 mg/ml	-	-



Şekil 3. 8. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Belirlenen Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları

4. TARTIŞMA

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), her yıl dünya çapında 150 milyon insanı etkileyen en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. İYE'lere Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin yanı sıra bazı funguslar neden olabilmektedir. İYE'ler için en yaygın etken üropatojenik *E. coli*'dir (Flores-Mireles vd., 2015).

ÜSİ'lerin ampirik tedavisinde ampisilin, amoksisilin ve trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX) kullanılmaktadır. Ülkemizde yanlış antibiyotik kullanımı nedeni ile antibiyotiklere direnç gelişimi ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. ÜSİ'lerde en sık etken olarak karşılaşılan *E. coli* izolatlarında gelişen antibiyotik direnci birçok çalışmada rapor edilmiştir (Ekim vd., 1998).

1998 yılında yapılan bir çalışmada ÜSİ'lerde ampirik olarak sık tercih edilen antibiyotiklere (ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol) önemli oranda direnç geliştiği gösterilmiştir (Ekim vd., 1998).

Ankara Etlik Lokman Hekim Hastanesinden izole edilen 110 *E. coli* izolatının % 56'sının ampisiline, % 24'ünün ampisilin sulbaktama, % 9'nun gentamisine, % 15'nin siprofloksasine, % 36'sının trimetoprim-sulfametoksazol, % 12'sinin sefazoline ve % 7'sinin sefuroksime dirençli olduğu belirlenmiştir (Eryılmaz vd., 2010).

İzmir'de bulunan farklı hastanelerden ÜSİ'li hastalardan 4.534 *E. coli* izole edilmiştir. Kadın ve erkeklerden izole edilen izolatlar için antibiyotik direnç oranları sırasıyla: Ampisilin (% 61.8, % 78.7), amoksisilin-klavulanik asit (% 36.6, % 59.1), sefuroksim (% 22.5, % 41.3), sefotaksim (% 18.2, % 35.8), piperasilin-tazobaktam (% 11.6, % 31.2), amikasin (% 8.3, % 13.9), gentamisin (% 24.9, % 40), trimetoprim-sulfametoksazol (% 42.1, % 57.3) olarak belirlenmiştir (Yılmaz vd., 2009).

2014 yılında Doğru ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada idrar örneklerinden izole edilen toplam 2.365 adet *E. coli* suşundaki GSBL varlığını 297 (% 12.6) olarak belirlemişlerdir. Ayrıca son yıllarda, idrar yolu enfeksiyonu etkeni olan *E. coli* suşlarında GSBL oranlarının artış gösterdiğini bu çalışmada belirtmişlerdir (Doğru vd., 2014). İstanbul'da bir hastaneden idrar ve solunum yolu örneklerinden izole edilen GSBL fenotipli toplam 61 *E. coli* izolatının dahil edildiği çalışmada; CTX-M-1 grup β -laktamaz, izolatların % 86.8'inde görülmüştür (Gönüllü vd., 2008).

2011-2012 yılları arasında Türkiye genelinde 10 farklı hastaneden 440 genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten *E. coli* izole edilmiştir. Klinik örneklerin % 80.45'inin idrar örneği olduğu belirtilmiştir. İzolatlarda CTX-M-1 % 83.18, TEM % 44.09, CTX-M-2 % 31.81 ve SHV % 1.81 oranında tespit edilmiştir (Çopur Çiçek vd., 2013).

Bir diğer çalışmada idrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının ve integron gen kasetleri varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, idrar örneklerinden izole edilen 626 *E. coli* suşu dahil edilmiştir. İzolatların antibiyotik direnç oranlarına göre en yüksek direncin, ampirik tedavide sık kullanılan ampicilin (% 58.6) ve trimetoprim-sülfametoksazol (SXT) (% 41.2) için saptandığı görülmüştür. İzolatlar karşı en etkin antibiyotiklerin ise imipenem (% 0.2) ve amikasin (% 0.6) olduğu belirlenmiştir. İzolatlarda sınıf 1 integron gen kaseti %16.6 (104/626) olarak bulunmuş; sınıf 2 gen kaseti için % 3 (19/626) olarak saptanmıştır (Çopur Çiçek vd., 2016).

PZR sonucuna göre, suşların % 63'ü (57/90) sınıf 1 integron taşıdığı belirlendi. 2016 yılında Çopur Çiçek vd., tarafından yapılan çalışmada idrar örneklerinden izole edilen suşlarda sınıf 1 integron gen kaseti % 16.6 (104/626) olarak tespit edilmiştir (Çopur Çiçek vd., 2016).

CTX-M-2 grubu β -laktamaz taşıyan 52 izolat (% 57) ve CTX-M-1 grubu β -laktamaz taşıyan 52 izolat (% 57) tespit edildi. Rize ilinde GSBL üreten *E. coli* izolatlarında CTX-M-1 varlığının diğer illere göre düşük olduğu, CTX-M-2 varlığının yüksek olduğu söylenebilir. Diğer β -laktamaz kodlayan genler (*bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{GES}*) gözlenmedi. Bu sonuç karbapenemlere direnç oranının düşük olması ile ilişkilendirilebilir.

Uygun olmayan ve gereksiz kinolon uygulamaları, tedavi seçeneklerini sınırlayan dirençli *E. coli* izolatlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Rezazadeh vd., 2016). PZR sonuçlarına göre *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin sırasıyla % 26.6 (24/90), % 6.6 (6/90) ve % 3.3 (3/90) oranlarında çalışılan izolatlarda bulunmuştur. Sonuçların aksine, bir çalışmada en yaygın *qnr* determinantının *qnrB* ve ardından *qnrS* olduğunu bildirmiştir (Yanat vd., 2014). Başka bir çalışmada, 120 *E. coli* izolatında *qnrA*, *qnrB* ile *qnrS*'nin varlığı araştırılmış ve *qnrB* (% 2.8) ve *qnrS* (% 1.12) genleri tespit edilmiştir, ancak *qnrA* bulunamamıştır (Sedighi vd., 2015).

Plazmid aracılı kinolon direnci genleri genellikle GSBL genleri ile birlikte bulunur (Yanat vd., 2014). CTX-M enzimleri hem hastane hem de toplum kaynaklı GSBL'dir (Pitout vd., 2005). *bla_{CTXM-2}* ve plazmid aracılı kinolon direnci genlerinin birlikte

ekspresyonu İYE'lerden izole edilen *E. coli*'de bildirilmiştir (Yanat vd., 2014; Nazik vd., 2011).

Çoklu ilaç direnci (MDR) oranı plazmid aracılı kinolon direnç genleri taşıyan *K. pneumoniae* ve *E. cloacae* izolatlarında plazmid aracılı kinolon direnç genleri taşımayan izolatlara göre daha yüksektir (17-28 kat). Diğer araştırmacılar tarafından gözlemlenen bu bulgular *qnrB* ve diğer antibiyotik direnç genleri arasında bir bağlantı olduğunu gösterebilir (Kim vd., 2009). Ancak bu çalışmada, plazmid aracılı kinolon direnç genleri taşıyan *E. coli* izolatlarında bu ilişki bulunmamıştır.

Bakteriyel adezin *fimH* (*E. coli*'nin patogeneğinde rol oynar), *E. coli*'nin tip 1 pili üzerinde bulunan bir virülans faktörüdür. Bu çalışmada incelenen 7 virülans geninden *fim* geninin en yaygın olduğu saptanmıştır (% 82.2). Kot vd., (2016) benzer sonuçlar bildirmiştir (Kot vd., 2016). Ayrıca Yun vd., (2014) yaptığı çalışmada, *fimH* yapışma geninin, hem İYE'lerde hem de asemptomatik bakterilerde (ABU) en yaygın virülans olduğunu göstermişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre *pap* gen ailesinin İYE ve ABU izolatlarında yaygın olduğunu tespit etmişlerdir (Yun vd., 2014). Bu çalışmada ise *E.coli* izolatlarında *pap* genine rastlanmamıştır.

Başka bir çalışmada *sfa* en yaygın virülans geni olarak bildirilmiştir (Arabi vd., 2012). Bu çalışmada ise *sfa* geni *E. coli* izolatlarında bulunmadığı görülmüştür. Bir başka çalışmada, *afaI*, *hly* ve *cnf1* virülans faktörü genlerinin varlığı sırasıyla % 8.13, % 50.4 ve % 50.4 olarak tespit edilmiştir (Momtaz vd., 2013). Bu çalışmada ise *afa*, *hly* ve *cnf1* virülans genlerinin varlığı sırasıyla % 16.6, % 3.3 ve % 16.6 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada 7 virülans geninden, *aer* (% 36.6) en yaygın ikinci virülans faktörü olarak görülmüştür. Sonuçlarımıza benzer şekilde, başka bir çalışmada, oldukça yaygın olan *fimH* geninden sonra en sık tespit edilen ikinci virülans faktörü kodlayan gen olarak *aer* bildirilmiştir (Usein vd., 2001).

Tip 1 fimbria'nın yüksek seviyeleri, izole edilen suşların patojenisitesi ile ilişkili olabilir, çünkü tip 1 fimbria (*fimH*) idrar yolunun kolonizasyonunda önemli bir rol oynar (López-Banda vd., 2014). Ek olarak, çalışma da elde edilen coğrafi bölgenin bu genlerin prevalansını etkileyebileceğini göstermiştir (Firoozeh vd., 2014). İncelenen suşlarda 11 virülans gen modeli tespit edilmiştir. E2, sadece *fim* geninin varlığı ile karakterize edilmiş ve 35 izolatta bulunan en yaygın modeldir. Virülans faktörü ve antibiyotik direnç genlerinin varlığı, İYE'lerden izole edilen organizmalarda sürekli olarak değişmektedir, bu

nedenle, bu ve benzeri çalışmalar İYE'lerin ampirik tedavisi için yerel ve ulusal antimikrobiyal direnç eğilimlerini takip etmek için gereklidir (Rezazadeh vd., 2016).

Bitkiler, insanlar için temel besin kaynağı olarak kullanılır ve bunun yanında insanların kullandıkları ilk ilaçlardır. İnsanlar ilk çağlardan beri yaptıkları deneme yanılma yöntemi ile bitkilerin hangilerinin yararlı hangilerinin zararlı veya hangilerinin şifa verici (tıbbi) olduğunu öğrenmişlerdir. İnsanlar tıbbi bitkilerin esas etkili maddesini elde etmeyi başarmışlardır. Son yıllarda insanların doğal antimikrobiyallere karşı olan hassasiyeti artmış olup bu sebeple bitkisel ürünlerin koruyucu özellikleri hakkında bilim insanları çeşitli çalışmalar yapmaktadır (Koyuncu vd., 2008).

Elde edilen literatür araştırmaları sonucunda; bitki ekstraksiyonlarında kullanılan metodların, özütlerin elde edilmesinde kullanılan çözücülerin, özütlerin konsantrasyonlarının, antimikrobiyal tayininde kullanılan yöntemlerin ve kullanılan suşların farklı olmasının bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden olduğu görülmektedir (Karankı, 2013).

Farooqui vd., (2015) yapmış oldukları bir çalışmada, *Camellia sinensis* (Yeşil çay) bitkisinin su ve metanol özütlerini kullanmışlardır. Yapılan çalışmada sulu özütlerin *E. coli*'ye karşı MİK değeri 3.12 mg/ml olarak tespit edilmiş ve metanol özütlerinin MİK değeri ise 5 mg/ml olarak bulunmuştur (Farooqui vd., 2015). Bu çalışmada ise *Camellia sinensis*'in metanol özütlerinin kinolon dirençli *E. coli*'ye karşı MİK değerleri EC58 ve EC85 için 10 mg/ml, EC50 ve EC90 için 5mg/ml olarak tespit edildi.

Akgöz, (2015) yaptığı bir çalışmada antimikrobiyal aktivite bakımından önemli olan *Hypericum perforatum* (kantaron) bitkisinin *E. coli* üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır (Akgöz, 2015). Bu çalışma da ise *Hypericum perforatum*'un kinolon dirençli *E. coli* üzerinde herhangi bir etkisi gözlemlenmedi.

Karakaş vd., (2019) yapmış oldukları çalışmada *Tilia tomentosa* (ıhlamur) bitkisinin çiçeklerinin n-hekzan özütü hazırlanmıştır. MİK değerleri görsel olarak değerlendirilmiştir ve *Tilia tomentosa* bitkisinin *E. coli* üzerinde inhibe edici etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Karakaş vd., 2019). Bu tez çalışmasında ise ıhlamurun metanol özütü 23 mg/ml konsantrasyonda hazırlandı ve MİK sonuçlarına göre 5.75 mg/ml konsantrasyonda kinolon dirençli *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Mercimek Taccı vd., (2019) yapmış oldukları çalışmada *Alkanna tinctoria* (havacıva)'nın köklerinin metanol ve etanol özütlerini 20 mg/ml konsantrasyonda hazırlamışlardır. *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini incelemek için agar difüzyon yöntemini

kullamışlardır ve inhibe edici etkisi olmadığını tespit etmişlerdir (Mercimek Takcı vd., 2019). Bu tez çalışmasında havacıva'nın metanol özütleri 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlandı ve antimikrobiyal tayininde sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile bitki özütlerinin MİK değerleri belirlendi. Çalışmada EC58 ve EC85 suşlarını 1.25 mg/ml konsantrasyonda inhibe ettiği tespit edilirken EC50 ve EC90 suşlarını ise 2.5 mg/ml konsantrasyonda inhibe ettiği görüldü.

Pramila vd., (2012) yapmış oldukları çalışmada *Mentha piperita* L.(Nane) özütünün *E. coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. MİK değeri ise 3.125 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Pramila vd., 2012). Bu tez çalışmasında ise *Mentha piperita* L.(Nane) bitkisinin metanol özütlerinin MİK değerleri EC58 ve EC85 için 15 mg/ml olarak tespit edilirken EC50 ve EC90 için 7.5 mg/ml olarak tespit edildi.

Döşler ve arkadaşlarının 2019'da yaptığı çalışmada, *Rosmarinus officinalis* L'nin (Biberiye) *E. coli*'ye karşı % 1.25-2.5'lik konsantrasyonlarda etkili olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada biberiyenin sulu özütleri kullanılmıştır ve 50-0.048 µg/mL arasındaki konsantrasyonları hazırlanmıştır. *E. coli*'nin klinik suşlarına karşı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen MİK değerleri 50 µg/ml olarak tespit edilmiştir. (Döşler vd., 2019). Bu tez çalışmasında biberiyenin metanol özütlerinin kinolon dirençli *E. coli* suşlarında antimikrobiyal etkisi tespit edilmedi. Mirtaghi vd., (2016) yaptıkları çalışmada *Urtica dioica* L.'nin özütünün elde edilmesinde % 70'lik etanol kullanmışlardır. Antimikrobiyal tayininde disk difüzyon yöntemi kullanılmış ve *Urtica dioica* L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarının (500-12.5 mg/ml) *E. coli* üzerinde etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Mirtaghi vd., 2016). Bu tez çalışmasında ise *Urtica dioica* L.'nin metanol özütleri hazırlandı ve kinolon dirençli *E. coli* suşları üzerinde 35 mg/ml konsantrasyonda antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlendi.

Çete vd., (2015) yaptıkları çalışmada *Aloe vera* L. (sarısabır) bitkisinin antimikrobiyal aktivitelerini alkol, su ve kloroform olmak üzere üç fazda incelemişlerdir. *Aloe vera* L.'nin antimikrobiyal etkisinin ölçülmesinde agar difüzyon yöntemini kullanmışlardır. *Aloe vera* L.'nin alkol özütünün *E. coli*'yi inhibe edici etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir (Çete vd., 2015). Bu tez çalışmasında ise *Aloe vera* L.'nin metanol özütleri kullanıldı. Çalışmada EC58 ve EC85 suşlarını 50.25 mg/ml konsantrasyonda inhibe ettiği tespit edilirken EC50 ve EC90 suşlarını inhibe etmediği görüldü.

Ram Kumar ve Pranay (2010) yaptıkları çalışmada, *Curcuma longa* metanol özütü hazırlamışlar ve antimikrobiyal aktivite tespitinde agar kuyu difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda *Curcuma longa*'nın *E. coli* üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu bildirilmişlerdir (Ram Kumar ve Pranay 2010). Bu çalışmada ise *Curcuma longa*'nın kinolon dirençli izolatlar üzerinde antimikrobiyal etkisinin olmadığı tespit edildi.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada 90 *E. coli* izolatı incelendi ve 90 suşun tamamı idrar numunelerinden izole edildi. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre izolatların en yüksek direnç oranları siprofloksasin, trimetoprim sülfametoksazol ve ampisilin için belirlendi. Suşların duyarlı olduğu antibiyotikler ise fosfomisin, imipenem ve meropenem olarak tespit edildi.

PZR sonuçları, suşların % 63'ünün sınıf 1 integron gen kasetlerini taşıdığını gösterdi. Ayrıca, suşların % 50'den fazlasının CTX-M grubu β -laktamaz taşıdığı tespit edildi. Araştırılan diğer antibiyotik direnç genlerine rastlanılmadı. Bu çalışmada 7 farklı virülans faktör geni araştırılmıştır ve en yaygın olarak *fim* tipi virülans faktör geni görülmüştür. *afa*, *cnf1*, *hly* ve *aer* virülans faktör genlerinin suşlarda sırasıyla % 16.6, % 16.6, % 3, % 36.6 oranlarında görülmüştür. Ayrıca *sfa* ve *pap* genlerinin varlığına ise rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada; biberiye, zerdeçal, sarı kantaron, nane, yeşil çay, ihlamur, havacıva, sarısabır ve ısırgan otunun metanol özütlerinin kinolona dirençli *E.coli* izolatları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. En yüksek MİK değerinin EC58, EC85, EC50 ve EC90 suşlarına karşı 50.25 mg/ml konsantrasyonla sarısabır bitkisinin olduğu tespit edilmiştir. En düşük MİK değerinin ise E58 ve EC85 suşlarına karşı 1.25 mg/ml konsantrasyon ile havacıva olduğu tespit edilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda farklı antibiyotik direnç genlerine sahip *E. coli* suşlarının farklı bitki özütleritaraından inhiye edildikleri görülmüştür.

Türkiye'de hastane kökenli antibiyotik direncinin moleküler epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Dünya genelinde yapılan çalışmalara bakıldığında; Türkiye'de hastane kökenli antibiyotik direncinin moleküler yöntemlerle araştırılması ile ilgili yer alan çalışmalar azdır. Farklı hastanelerden farklı izolatlar temin edilerek moleküler yöntemler kullanılarak antibiyotik direnç mekanizmaları belirlenebilir.

Tez kapsamında kullanılan bitkilerin kinolon dirençli izolatlar üzerindeki etkisi ilk kez bu çalışmada araştırılmıştır. Kinolon direnci üzerinde farklı bitkiler kullanılarak bu çalışmanın devamı olarak çalışılabilir. Bu çalışmada bitkilerin metanol özütleri kullanılmıştır.

Buna ek olarak aynı bitkilerin farklı çözücülerle hazırlanmış etanol/kloroform/hegzan gibi özütlerinin kinolon direncili izolatlar üzerindeki büyümeyi inhibe edici etkisi de araştırılabilir.

Ayrıca bitkilerin fitokimyası araştırılarak, antibakteriyal etkinliğinin neyden kaynaklandığını da ileriki araştırmalarda ortaya konulabilir.

Bu çalışma antibiyotik direnç mekanizmalarının aydınlatılmasında daha ileriki araştırmalar için de yol gösterici olmuştur. Bu kapsamda yeni proje konuları belirlenebilir.



6. KAYNAKLAR

- Akev, N., Can, A., Sütülpınar, N., Çandöken, E., Özsoy, N., Özden, Y.T., Yanardağ, R. ve Üzen, E., 2015. Twenty Years of Research on Aloe vera, Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University, 45, 2, 191-215.
- Akgöz, Y., 2015. The Effects of Hypericum (Hypericaceae) Species on Microorganisms: A Review, International Research Journal of Pharmacy, 6, 7, 390-399.
- Aldred, K.J., Kerns, R.J. ve Osheroff, N., 2014. Mechanism of Quinolone Action and Resistance, American Chemical Society, 53, 1565-1574.
- Arabi, S., Tohidi, F., Naderi, S., Nazemi, A., Jafarpour, M. ve Naghsbandi, R., 2012. The Common Fimbarie Genotyping in Uropathogenic Escherichia coli, Annals of Biologcal Research, 3, 10, 4951-4954.
- Arık, Y., 2019. Escherichia Coli (E. coli) Bakterisinin Kekik Yağı ve Biyosürefektan Kullanımı ile Antibiyotik Etkinliğinin Artırılmasının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Mersin, 3s.
- Aslan, M. ve Orhan, N., 2010. Obezite Tedavisine Yardımcı Olarak Kullanılan Doğal Ürünler, Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi, 23, 24, 91-105.
- Ayan, A.K., Çalışkan, Ö. ve Çırak, C., 2006. Isırgan Otu (Urtica spp.)'nun Ekonomik Önemi ve Tarımı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21, 3, 357-363.
- Aydemir, K., 2015. Sarı Kantaron (Hypericum Perforatum L.) Ekstraktının Dondurma Üretiminde Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Samsun, 7s.
- Aytar, A.A., Şahin, İ., Öztürk, C.E., Öksüz, Ş., Avcıoğlu, F., Çalışkan, E. ve Ankaralı, H., 2015. Gram Negatif Nonfermentatif Bakterilerde Metallo-Beta-Laktamaz Aktivitesinin Çeşitli Fenotipik Yöntemlerle Araştırılması, ANKEM Dergisi, 29, 1, 8-15.
- Bal, Ç., 2003. Beta-Laktamazlar: Güncel Durum, FLORA, 8, 2, 111-123.
- Baldemir, A., Ildız, N., Karaman, Ü., Eker, A.E. ve İnce, U., 2017. Artemisia Absinthium L., A. Ludoviciana Nutt. ve A. Vulgaris L. (Asteraceae) Ekstre ve Uçucu Yağlarının Karbapenem Dirençli Suşlara Karşı İn Vitro Antibakteriyel Aktivitesinin Araştırılması, Sağlık Bilimleri Dergisi, 26, 94-98.
- Barichello, T., Fagundes, G.D., Generoso, J.S., Elias, S.G., Simoes, L.R. ve Teixeira, A.L., 2013. Pathophysiology of Neonatal Acute Bacterial Meningitis, Journal of Medical Microbiology, 62, 1781-1789.

- Baumgartner, M., 1983. Cefoperazon, Cefsulodin und Ceftazidim – drei Pseudomonas-wirksame Cephalosporine im Vergleich mit ihren Monobaktaman-analoga, Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene, 254, 2, 253-260.
- Bayram, E., Geren, H., Avcı, A.B. ve Arabacı, O., 2004. Farklı Kökenli Bazı Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) Populasyonlarının Verim ve Kalite Özellikleri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 41, 2, 49-58.
- Bektaş, A., Güdücüoğlu, H., Gürsoy, N.C., Berktas, M., Gültepe, B.S., Parlak, M., Otlı, B. ve Tekeroğlu, M.S., 2018. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarının GSBL Genlerinin Araştırılması, FLORA, 23, 3, 116-123.
- Benzerara, Y., Gallah, S., Hommeril, B., Genel, N., Decre, D., Rottman, M. ve Arlet, G., 2017. Emergence of Plasmid-Mediated Fosfomycin-Resistance Genes among *Escherichia coli* Isolates, France, Emerging Infectious Diseases, 23, 9, 1564.1567.
- Bilgehan, H., 2000. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Barış Yayınları, İzmir, 7-12s.
- Bina, M., A, Pournajaf, A., Mirkalantari, S., Talebi, M. ve Irajian, G., 2015. Detection of the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) in *K. pneumoniae* Isolated from the Clinical Samples by the Phenotypic and Genotypic Methods, Iranian Journal of Pathology, 10, 3, 199-205.
- Bonfiglio, G., Russo, G. ve Nicoletti G., 2002. Recent Developments in Carbapenems, Expert Opin Investig Drugs, 11, 4, 529–544.
- Bonnet, R., 2004. Enzymes Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48, 1-14.
- Bouguenéc, L.C. ve Servin, A.L., 2006. Diffusely Adherent *Escherichia coli* Strains Expressing Afa/Dr Adhesing (Afa/Dr DAEC): Hitherto Unrecognized Pathogens, Federation of European Microbiological Societies Microbial Lett, 256, 185-194.
- Bradford, P.A., 2001. Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology and Detection of This Important Resistance Threat, Clinical Microbiology Reviews, 14, 933-951.
- Bush, K. ve Jacoby, G.A., 2010. Updated Functional Classification of β -lactamases, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 54, 969-76.
- Bush, K., Jacoby, G.A. ve Medeiros, A.A., 1995. A Functional Classification Scheme for β -lactamases and Its Correlation with Molecular Structure, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 39, 1211-33.
- Canzani, D. ve Aldeek, F., 2017. Penicillin G's Function, Metabolites, Allergy, and Resistance, Journal of Nutrition and Human Health, 1, 1, 28-40.
- Celenza, G., Pellegrini, C., Caccamo, M., Segatore, B., Amicosante, G. ve Perilli, M., 2006. Spread of blaCTX-M-type and blaPER-2 B-Lactamase Genes in Clinical Isolates from Bolivian Hospitals, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 57, 975–978.

- Cengiz, M., 2010. Bakterilerde Kinolon Direncinin Genetiği, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 29, 1, 55-60.
- Chambers, F.H., 2011. Goodman & Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics 10th edition. Antimicrobial Agents. Goodman, L.S. and Gilman, A. (eds.), The McGraw-Hill Company, USA, pp. 1143-1169.
- Constantiniu, S., Buzdugan, I., Romaniuc, A., Cozma, L., Filimon, R., Dumbrava, M., Nistor, A., Teodoru, L., Onu, P. ve Danis, G., 2001. Setotypes of Escherichia Coli Enteroinvasive In Northeastern Districts of Romania, The Journal of Preventive Medicine, 9, 3, 67-73.
- Copur Cicek, A., Saral, A., Ozad Duzgun, A., Yasar, E., Cizmeci, Z., Ozlem Balcı, P., Sari, F., Firat, M., Altintop, Y.A., Ak, S., Caliskan, A., Yildiz, N., Sancaktar, M., Esra Budak, E., Erturk, A., Birol Ozgumus, O. ve Sandalli, C., 2013. Nationwide Study of Escherichia coli Producing Extended-Spectrum β -Lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey, The Journal of Antibiotics (Tokyo), 66, 11, 647-50.
- Cornaglia, G., Giamarellou, H. ve Rossolini, G.M., 2011. Metallo- β -lactamases: A last Frontier for β -lactams, The Lancet Infectious Diseases, 11, 5, 381-93.
- Çakmak, H.E. ve Bayram, E., 2003. Muğla Orijinli Sarı Kantaron (Hypericum perforatum L.) Populasyonlarının Bazı Agronomik ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 40, 1, 57-64.
- Çayır, E., 2014. Yaş Ve Kuru Nane Bitkilerinde Antioksidan Aktivite Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Ecz) Anabilim Dalı, Ankara, 4s.
- Çete, S., Arslan, F. ve Yaşar, A., 2005. Investigation of Antimicrobial Effects Against Some Microorganisms of Aloe vera and Nerium Oleander Also Examination of the Effects on the Xanthine Oxidase Activity in Liver Tissue Treated with Cyclosporin, Gazi University Journal of Science, 18, 3, 375-380.
- Çetinkaya, F., 2008. Penisilin ve Diğer Betalaktam Antibiyotik Alerjilerinde Son Görüşler, Türk Pediatri Arşivi, 43, 36-39.
- Çopur Çiçek, A., Sandallı, C., Budak, E.B., Yağmur, G., Çizmeci, Z., Ak, S., Balcı, P.Ö., Coşkun, S.U.Ş., Altintop, A.Y., Firat, M., Sarı, F., Çalışkan, A., Yıldız, N., Sancaktar, M. ve Özgümüş, B.Ö., 2016. İdrar Kültürlerinden İzole Edilen Escherichia coli Suşlarında Sınıf 1 ve Sınıf 2 İntegron Gen Kasetlerinin Karakterizasyonu: Çok Merkezli Bir Çalışma, Mikrobiyoloji Bülteni, 50,2,175-185.
- Çiftçi, A. ve Aksoy, A., 2015. Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları, Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences Pharmacology Toxicol-Special Topics, 1, 2, 1-10.
- Çoban, Ö.E. ve Patır, B. 2010. Antioksidan Etkili Bazı Bitki ve Baharatların Gıdalarda Kullanımı, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 5, 2, 7-19.

- Çötel, E. ve Karataş, F., 2017. Zerdeçal (*Curcuma longa* L.) Bitkisindeki Antioksidan Vitaminler ve Glutasyon Miktarları ile Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 33, 2, 91-101.
- Dağlar, D. ve Öngüt, G., 2012. Genişlemiş Spektrumda Beta-Laktamazlar (GSBL) ve Tanı Yöntemleri, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 1, 1-9.
- Deniz, B. ve Şirin, U., 2005. Samson Dağı Doğal Bitki Örtüsünün Otsu Karekterdeki Bazı Örneklerinden Peyzaj Mimarlığı Uygulamalarında Yararlanma Olanaklarının İrdelenmesi, Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2, 2, 5-12.
- Deniz Ögeday, E., Cömert, F., Köktürk, F., Külah, C. ve Aktaş, E., 2016. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. İzolatlarında CTX-M Enzimlerinin Belirlenmesi, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 46, 2, 88-96.
- Djuikoue, I.C., Woerther, P.L., Toukam, M., Burdet, C., Ruppé, E. ve Gonsu, K.H., 2016. Intestinal Carriage of Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing *E. coli* in Women with Urinary Tract Infections, Cameroon, Journal of Infection in Developing Countries, 10, 10, 1135-1139.
- Doğru, A., Üçışık, A.C., Sargın, F., Aydın, Ö., Ergen, P. ve Tükenmez Tigen, E., 2014. İdrar Örneklerinde Üretilen *Escherichia coli* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Varlığı ve Antibiyotik Duyarlılıkları, Göztepe Tıp Dergisi, 29, 4, 219-224.
- Döşler, S., Özdemir, R. ve Yılmaz, F., 2019. Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması, Türk Farmakope Dergisi, 4, 3, 17-28.
- Ekim, M., Kuloğlu, Z., Aysev, D. ve Cin, Ş., 1998. *E. coli*'nin Neden Olduğu Üriner Enfeksiyonlarda Antibiyotik Duyarlılığında Değişiklikler, Office Journal of the Turkish Nephrology, 3, 141-144.
- Emody, L., Kerényi, M. ve Nagy, G., 2003. Virulence Factors of Uropathogenic *Escherichia coli*, International Journal of Antimicrobial Agents, 2, 29-33.
- Eryılmaz, M., Bozkurt, M.E., Yildiz, M.M. ve Akin, A., 2010. Antimicrobial Resistance of Urinary *Escherichia coli* Isolates, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 9, 2, 205-209.
- Eto, D.S., Jones, T.A., Sundsbak, J.L. ve Mulvey, M.A., 2007. Integrin-Mediated Host Cell Invasion by Type 1-Piliated Uropathogenic *Escherichia coli*, Public Library of Science Pathogens, 3, 7, e100.
- Farell, D.J., Morrissay, I., De Rubeids, D., Robbins, M. ve Felmingham, D., 2003. UK Multicentre Study and the Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Pathogens Causing Urinary Tract Infection, The Journal of Infection, 46, 2, 94-100.
- Farooqui, A., Khan, A., Borghetto, I., Kazmi, S.U., Rubino, S. ve Paglietti, B., 2015. Synergistic Antimicrobial Activity of *Camellia Sinensis* and *Juglans Regia* Against Multidrug-resistant Bacteria, Public Library of Science One, 10, 6-14.

- Firoozeh, F., Saffari, M., Neamati, F. ve Zibaei, M., 2014. Detection of Virulence Genes in Escherichia coli Isolated from Patients With Cystitis and Pyelonephritis, International Journal of Infectious Diseases, 9, 219-22.
- Flores-Mireles, A.L., Walker, J.N., Caparon, M. ve Hultgren, S.J., 2015. Urinary Tract Infections: Epidemiology, Mechanisms of Infection and Treatment Options, Nature Reviews Microbiology, 13, 5, 269-84.
- Fluit, A.C. ve Schmitz, F.J., 2004. Resistance Integrins and Super-Integrins, Clinical Microbiology and Infection, 10, 272-288.
- Gonullu, N., Aktas, Z., Kayacan, C.B., Salcioglu, M., Carattoli, A., Yong, D.E. ve Walsh, T.R., 2008. Dissemination of CTX-M-15 Beta-Lactamase Genes Carried on Inc FI and FII Plasmids Among Clinical Isolates of Escherichia coli in A University Hospital in Istanbul, Turkey, Journal of Clinical Microbiology, 46, 3, 1110-1112.
- Gökalp, H.Y. ve Çeper, Ş., 1990. Yeşil Çay Üretim Teknolojisi ve Ülkemizde Yeşil Çay Üretimi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilim ve Teknolojisi Bölümü Dergisi, 15, 6, 355-358.
- Guth, B.E.C., 2000. Enterotoxigenic Escherichia coli- an Overview, Article in Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 95, 1, 95-97.
- Gülay, Z., 2001. Beta-Laktamlara ve Karbapenemlere Direnç, Hastane Enfeksiyonları Dergisi, 5, 210-229.
- Güler Kesici, H., Dönmez, İ.E. ve Alay Aksoy, S., 2015. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antibakteriyel Aktivitesi ve Tekstil Sektöründe Kullanımı, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi, 10, 2, 27-34.
- Günal, E. ve Erdem, H., 2014. Kinolonlar, İç Hastalıkları Dergisi, 21, 69-85.
- Hanson, N.D., Moland, E S., Hossain, A., Neville, S.A., Gosbell, I.B. ve Thomson, K.S., 2002. Unusual Salmonella Enterica Serotype Typhimurium Isolate Producing CMY-7, SHV-9 and OXA-30 B-lactamases, The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 49, 1011-1014.
- Hong, D.J., Bae, I.K., Jang, I.H., Jeong, S.H., Kang H.K. ve Lee, K., 2015. Epidemiology and characteristics of metallo- β -lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa, Journal of Infection and Chemotherapy, 47, 2, 81-97.
- İşeri Abut, L., 2007. Enterotoksijenik Escherichia coli, Türkiye Klinikleri Dergisi, 27, 768-773.
- Jacoby, G.A., 2005. Mechanisms of Resistance to Quinolones, Clinical Infectious Diseases, 41, 120-126.
- Jadhav, S., Hussain, A., Devi, S., Kumar, A., Parveen, S., Gandham, N., Wieler, H.L., Ewers, C. ve Ahmed, N., 2011. Virulence Characteristics and Genetic Affinities of Multiple Drug Resistant Uropathogenic Escherichia coli from A Semi Urban Locality in India, Public Library of Science One, 6, 3, e18063.

- Jeon, B.C., Jeong, S.H., Bae, I.K., Kwon, S.B., Lee, K., Young, D., Lee, J.H., Song, J.S. ve Lee, S.H., 2005. Investigation of A Nosocomial Outbreak of İmipenem- Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing The OXA-23 β -Lactamase in Korea, Journal of Clinical Microbiology, 43, 2241-2245.
- Johnson, J.R., 1991. Virulence Factors in *Escherichia coli* Urinary Tract Infection, Clinical Microbiology Reviews, 4, 1, 80-128.
- Johnson, J.R., Russo, T.A., Tarr, P.I., Carlino, U., Bilge, S.S., Vary, J.C. Jr. ve Stell, A.L., 2000. Molecular Epidemiological and Phylogenetic Associations of Two Novel Putative Virulence Genes, *Iha* and *Iron* (*E. coli*), Among *Escherichia coli* Isolates from Patients with Urosepsis, Infection and Immunity, 68, 5, 3040-3047.
- Kaçar, O. ve Azkan, N., 2005. Bursa'da Doğal Florada Bulunan Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) Populasyonlarında Farklı Yüksekliklerin Hiperisin Oranı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19, 1, 77-89.
- Kaper, J.B., Nataro J.P. ve Mobley, H.L.T., 2004. Pathogenic *Escherichia Coli*, Nature Reviews Microbiology, 2, 123-140.
- Karakaş, N., Okur, M.E., Öztunç, N., Karadağ, A.E., Kültür, Ş. ve Demirci, B., 2019. *Tilia tomentosa* Moench Çiçeklerinin Uçucu Bileşenlerinin ve Çeşitli İn Vitro Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 12, 2, 220-229.
- Karankı, E., 2013. Ülkemizde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Baharatların Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ana Bilim Dalı, Niğde, 80s.
- Kayabaşı, N., Şanlı, H.S. ve Etikan, S., 2000. Havaciva ve Labada Bitkilerinden Elde Edilen Renkler ve Bu Renklerin Işık ve Sürtünme Hastalıkları Üzerine Bir Araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 10, 1, 7-10.
- Kesici Güler, H., Dönmez, İ.E. ve Alay Aksoy, S., 2015. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antibakteriyel Aktivitesi ve Tekstil Sektöründe Kullanımı, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi, 10, 2, 27-34.
- Kim, H.B., Park, C.H., Kim, C.J., Kim, E.C., Jacoby, G. ve Hooper, D.C., 2009. Prevalence of Plasmid Mediated Quinolone Resistance Determinants Over a 9-year Period, Antimicrobial Agents Chemotherapy, 53, 2, 639-645.
- Koç Türkoğlu, F., 2008. Pediatri Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanım Konusundaki Bilgi ve Tutumlarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, İstanbul, 13s.
- Kohanski, M.A. Dwyer, D.J. ve Collins, J.J., 2010. How Antibiotics Kill Bacteria: from Targets to Networks, Nature Reviews Microbiology, 8, 6, 423-435.
- Koo, M.W. ve Cho, C.H., 2004. Pharmacological Effects of Green Tea on the Gastrointestinal System, European Journal of Pharmacology, 500, 177-85.

- Kot, B., Wicha, J., Gruzewska, A., Piechota, M., Wolska, K. ve Obrębska, M., 2016. Virulence Factors, Biofilm-Forming Ability, and Antimicrobial Resistance of Urinary Escherichia coli Strains Isolated from Hospitalized Patients, Turkish Journals of Medical Sciences, 46, 6, 1908-14.
- Koyuncu, İ., Yıldırım, İ. ve Duranoğlu, S., 2008. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal Özellikleri, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, 913-916.
- Köseoğlu, Ö., 2004. İntegronlar, Mikrobiyoloji Bülteni, 38, 305-312.
- Kuk, S. ve Erensoy, A., 2008. Gen Klonlama, Plazmit Seçimi ve Fasciola hepatica Cathepsin L1 Uygulamaları, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 32, 1, 16-22.
- Liakopoulos, A., Mevius, D. ve Ceccarelli, D., 2016. A Review of SHV Extended Spectrum β -Lactamases: Neglected Yet Ubiquitous, Frontiers in Microbiology, 7, 1374.
- López-Banda, D.A., Carrillo-Casas, E.M., Leyva-Leyva, M., Orozco-Hoyuela, G., Manjarrez-Hernández, Á.H. ve Arroyo-Escalante, S., 2014. Identification of Virulence Factors Genes in Escherichia coli Isolates from Women with Urinary Tract Infection in Mexico, BioMed Research International, 1-10.
- Lüthje, P. ve Brauner, A., 2014. Virulence Factors of Uropathogenic E. coli and Their Interaction with the Host, Science Direct, 65, 337-372.
- Marejkova, M., Blahova, K., Janda, J., Fruth, A. ve Petras, P., 2013. Enterohemorrhagic Escherichia coli as Causes of Hemolytic Uremic Syndrome in the Czech Republic, Public Library of Science One, 8, 9, e73927.
- Mazel, D., 2006. Integrins: Agents of Bacterial Evolution, Nature Reviews Microbiology, 4, 608-620.
- Mazzorial, A., Bazaj, A. ve Cornaglia, G., 2017. Multi-Drug-Resistant Gram-Negative Bacteria Causing Urinary Tract Infections: A Review, Journal of Chemotherapy, 29, 2-9.
- Meral, H. ve Korukluoğlu, M., 2014. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28, 2, 71-82.
- Mercimek Takcı, H.A., Ucan Turkmen, F., Anlas, F.C., Ustun Alkan, F., Bakırhan, P., Demir, C. ve Sekeroglu, N., 2019. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Alkanna Tinctoria (L.) Tausch Root Extracts, Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 9, 1, 176-185.
- Mirtaghi, S.M., Nejad, P.T., Mazandarani, M., Livani, F. ve Bagheri, H., 2016. Evaluation of Antibacterial Activity of Urtica dioica L. Leaf Ethanolic Extract Using Agar Well Diffusion and Disc Diffusion Methods, Medical Laboratory Journal, 10, 5, 15-21.
- Momtaz, H., Karimian, A., Madani, M., Safarpour Dehkordi, F., Ranjbar, R. ve Sarshar, M., 2013. Uropathogenic Escherichia coli in Iran: Serogroup Distributions, Virulence Factors and Antimicrobial Resistance Properties, Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 12, 8.

- Moubareck, C., Brémont, S., Conroy, M.C., Courvalin, P. ve Lambert, T., 2009. GES-11, A Novel İntegron-Associated GES Variant in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrobials Agents Chemotherapy, 58, 3579–3581.
- Nataro, P.J. ve Kaper, J.B., 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*, Clinical Microbiology Reviews, 11, 1, 142-201.
- Nazik, H. ve Öngen, B., 2010. Türkiye’de Plazmit Aracılı Kinolon Direnci, ANKEM Dergisi, 24, 1, 46-54.
- Nazik, H., Bektöre, B., Öngen, B., İltaç, M., Özyurt, M. ve Kuvat, N., 2011. Plasmid-mediated Quinolone Resistance Genes in *Escherichia coli* Urinary Isolates from Two Teaching Hospitals in Turkey: Coexistence of TEM, SHV, CTX-M and VEB-1 type β -lactamases, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 10, 3, 25-33.
- Omerovic, M., Müstak, H.K. ve Kaya, İ.B., 2017. *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri, Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 28, 1, 1-6.
- Öncül, O., 2002. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi No:31, s. 23-38.
- Özad Düzgün, A., Okumuş, F., Saral, A., Çopur Çiçek, A. ve Cinemre, S., 2019. Determination of Antibiotic Resistance Genes and Virulence Factors in *Escherichia coli* Isolated From Turkish Patients with Urinary Tract İnfection, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 52, 1-5.
- Özguven, M. ve Kırıcı, S., 1998. Farklı Ekolojilerde Nane (*Mentha*) Türlerinin Verim ile Uçucu Yağ Oran ve Bileşenlerinin Araştırılması, Turkish Journal of Agriculture Forestry, 23, 465- 472.
- Özkan, L. ve Özkan, A.T., 2010. Alt Üriner Sistem ve Genital Sistem Enfeksiyonları, Türkiye Klinikleri Journal of Urology-Special Topics, 3, 3, 41-47.
- Öztürk, R., 2002. Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Gelişme Mekanizmaları ve Günümüzde Direnç Durumu, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi No: 31, s. 83-100.
- Pasqua, M., Michelacci, V., Martino, M.L.D., Tozzoli, R., Grossi, M., Colonna, B., Morabito, S. ve Prosseda, G., 2017. The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) Toward Pathogenicity, Frontiers in Microbiology, 8, 2390.
- Patel, S., Mathivanan, N. ve Goyal, A., 2017. Bacterial Adhesins, the Pathogenic Weapons to Trick Host Defense Arsenal, Biomedicine & Pharmacotherapy, 93, 763-771.
- Paterson, D.L. ve Bonomo, R.A., 2005. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update, Clinical Microbiology Reviews, 18, 657-686.
- Pitout, J.D., Laupland, K.B., Church, D.L., Menard, M.L. ve Johnson, J.R., 2005. Virulence Factors of *Escherichia coli* Isolates that Produce CTX-M-type Extended-spectrum β -lactamases, Antimicrobials Agents Chemotherapy, 49, 11, 4667-4670.

- Pobiega, M., Wojkowska-Mach, J., Chmielarczyk, A., Romaniszyn, D., Adamski, P., Heczko, P.B., Gryglewska, B. ve Grodzicki, T., 2013. Molecular Characterization and Drug Resistance of *Escherichia coli* Strains Isolated from Urine from Long-Term Care Facility Residents in Cracow, Poland, Medical Science Monitor, 19, 317-326.
- Poirel, L., Potron, A. ve Nordmann. P., 2012. OXA-48-like Carbapenemases: The Phantom Menace, The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 67, 1597-1606.
- Pramila, D.M., Xavier, R., Marimuthu, K., Kathiresan, S., Khoo, M.L., Senthilkumar, M., Sathya, K. ve Sreeramanan, S., 2012. Phytochemical Analysis and Antimicrobial Potential of Methanolic Leaf Extract of Peppermint (*Mentha piperita*: Lamiaceae), Journal of Medicinal Plants Research, 6, 2, 331-335.
- Ram Kumar, P. ve Pranay, J., 2010. Comparative Studies on the Antimicrobial Activity of Black Pepper (*Piper Nigrum*) and Turmeric (*Curcuma Longa*) Extracts, International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 1, 2, 0976-4550.
- Rezazadeh, M., Baghchesaraei, H. ve Peymani, A., 2016. Plasmid-Mediated Quinolone-Resistance (Qnr) Genes in Clinical Isolates of *Escherichia coli* Collected from Several Hospitals of Qazvin and Zanjan Provinces, Iran, Osong Public Health Research Perspectives, 7, 5, 307-12.
- Roche, J.K., Cabel, A., Sevilleja, J., Nataro, J. ve Guerrant, R.L., 2010. Enteraggregative *E. coli* (EAEC) Impairs Growth and Malnutrition Worsens EAEC Infection: A Novel Murine Model of the Infection Malnutrition Cycle, The Journal of Infectious Diseases, 202, 4, 506–514.
- Saran, B. ve Karahan, Z.C., 2010. Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış, Türk Üroloji Seminerleri, 1, 216-220.
- Sarı, H., 2005. Karbapenemlere Dirençli Gram-negatif Basil İzolatlarında İmipenem-EDTA/MEROPENEM-EDTA Disk Yöntemi ve Modifiye Hodge Testi ile Metallo-Beta-Laktamaz (MBL) Varlığının Araştırılması. Uzmanlık Tezi, T. C. Sağlık Bakanlığı Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, 9s.
- Sarıkürkcü, C., 2010. Yaygın Olarak Yetişen Bazı Orman Bitkilerinin (*Alkanna tinctoria* (L.) Tausch subsp. tinctoria, *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. longicaulis var. longicaulis ve *Phlomis bourgaei* Boiss.) Kimyasal İçerik Bazında Total Karakterizasyonu, Doktora Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa, 35s.
- Sedighi, I., Arabestani, M.R., Rahimbakhsh, A., Karimitabar, Z. ve Alikhani, M.Y., 2015. Dissemination of Extended-Spectrum B-Lactamases and Quinolone Resistance Genes Among Clinical Isolates of Uropathogenic *Escherichia coli* in Children, Jundishapur Journal of Microbiology, 8, 7, e19184.
- Shaikh, S., Jamale, F., Shazi, S. Mohd, S., Danish, R. ve Kamal, M.A., 2015. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment, Saudi Journal of Biological Sciences, 22, 90-101.

- Suryawanshi, H., Naik, R., Kumar, P. ve Gupta, R., 2017. Curcuma longa extract - Haldi: A safe, eco-friendly natural cytoplasmic stain, Journal of Oral and Maxillofacial Pathology, 21, 3, 340-344.
- Şadan, G., 2003. Beta-Laktam Antibiyotikler, Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences Pharmacology Toxicol-Special Topics, 1, 2, 194-202.
- Şenol, E., 2009. Karbapenemlerin Yeni Açılımları, ANKEM Dergisi, 23, 2, 14-16.
- Taiwo, V.O., Olukunle, O.A., Ozor, I.C. ve Oyejobi, A.T., 2005. Consumption of Aqueous Extract of Raw Aloe Vera Leaves: Histopathological and Biochemical Studies in Rat and Tilapia, African Journal of Biomedical Research, 8, 169-178.
- Tarchouna, M., Ferjani, A., Ben-Selma, W. ve Boukadida, J., 2013. Distribution of Uropathogenic Virulence Genes in Escherichia coli Isolated from Patients with Urinary Tract Infection, International Journal of Infectious Diseases, 17, 6, 450-453.
- Taşdemir, C., 2009. Toplum ve Hastane Kaynaklı İnfeksiyonlardan İzole Edilen Escherichia Coli Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Fenotiplerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, T. C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 21s.
- Tenover, F.C., 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria, American Journal of Infection Control, 34, 64-73.
- Topal, M., Uslu Şenel, G., Arslan Topal, E.I. ve Öbek, E., 2015. Antibiyotikler ve Kullanım Alanları, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31, 3, 121-127.
- Töreci, K., 2002. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Topçu, A.W., Söyletir, G. ve Doğanay, M., Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 1564-1571.
- Tunçkanat, F., 1993. Üriner Sistem İnfeksiyonu Patogeneğinde Bakteriyel Virülan Faktörleri, Klimik Dergi, 6, 1, 3-5.
- Tuttu, G., Ursavaş, S. ve Söyler, R., 2017. Ihlamur Çiçeğinin Türkiye'deki Hasat Miktarları ve Etnobotanik Kullanımı, Anadolu Orman Araştırmaları Dergisi, 3, 1, 60-66.
- Türker, A.H., Gülbaba, A.G., Taşdelen, A. ve Polat, S., 2011. Doğu Akdeniz Bölgesi Biberiyelerinin (Rosmarinus officinalis L.) Gen Kaynaklarının Korunması ve Klon Seçimi, T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, Teknik Bülten No: 40, Tarsus, Mersin.
- Ud-Din, A. ve Wahid, S., 2014. Relationship Among Shigella Spp. and Enteroinvasive Escherichia Coli (EIEC) and Their Differentiation, Brazilian Journal of Microbiology, 45, 4, 1131-1138.
- URL-1, <http://www.bitkivt.itu.edu.tr/vt/report.php?sor=294>. 10 Kasım 2019.
- URL-2, <http://florawww.eeb.uconn.edu/198501280.html>. 10 Kasım 2019.

- Usein, C.R., Damian, M., Tatu-Chitoiu, D., Capusa, C., Fagaras, R. ve Tudorache, D., 2001. Prevalence of Virulence Genes in Escherichia coli Strains Isolated from Romanian Adult Urinary Tract Infection Cases, Journal of Cellular Molecular Medicine, 5, 3, 303-310.
- Üstü, Y. ve Uğurlu, M., Aloe Vera and Centella Asiatica, Ankara Medical Journal, 2, 127-131.
- Van Bambeke, F., Michot, J.M., Van Eldere, J. ve Tulkens, P.M., 2005. Quinolones in 2005: an Update, Clinical Microbiology and Infection, 11, 256-280.
- Vasilaki, O., Ntokou, E., Ikonomidis, A., Sofianou, D., Frantzidou, F., Alexiou-Daniel, S., Maniatis, A.N. ve Pournaras, S., 2008. Emergence of the Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Gene qnrS1 in Escherichia coli Isolates in Greece, Antimicrobials Agents Chemotherapy, 52, 2996-2997.
- Vogler, B.K. ve Ernst, E., 1999. Aloe vera: A Systemic Review of Its Clinical Effectiveness, The British Journal of General Practice, 49, 823-828.
- Xu, L., Ensor, V., Gossain, S., Nye, K. ve Hawkey, P., 2005. Rapid and Simple Detection of blaCTX-M Genes By Multiplex PCR Assay, Journal of Medical Microbiology, 54, 1183-1187.
- Yanat, B., Vinuesa, T., Viñas, M. ve Touati, A., 2014. Determinants of Quinolone Resistance in Escherichia coli Causing Community-Acquired Urinary Tract Infection in Bejaia, Algeria, Asian Pacific Journal Tropical Medicine, 7, 6, 462-467.
- Yıldız, İ., Varkal, M. A. ve Ünüvar, E., 2014. Günümüzde Sefalozporinler ve Antibiyotik Direnci, Çocuk Dergisi, 14, 1, 22-27.
- Yilmaz, N., Agus, N., Yurtsever, S.G., Pullukcu, H., Gulay, Z., Coskuner, A., Kose, S., Aydemir, S., Gulenc, N. ve Ozgenc, O., 2009. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Escherichia coli in Outpatient Urinary Isolates in Izmir, Turkey, Medical Science Monitor, 15, 11, 61-65.
- Yun, K.W., Kim, H.Y., Park, H.K., Kim, W. ve Lim, I.S., 2014. Virulence Factors of Uropathogenic Escherichia coli of Urinary Tract Infections and Asymptomatic Bacteriuria in Children, Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 47, 6, 455-461.
- Yüce, A., 2001. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları, Klinik Dergisi, 14, 2, 41-46.
- Zhanel, G.G., Wiebe, R., Dilay, L., Thomson, K., Rubinstein, E., Hoban, D.J., Noreddin A.M. ve Karlowsky, J.A., 2007. Comparative Review of the Carbapenems, Drugs, 67, 1027-1052.

ÖZGEÇMİŞ

Funda OKUMUŞ 7 Aralık 1994 yılında Trabzon'da doğdu. İlköğretimini 2008 yılında Trabzon ilinde Profesör İhsan Koz İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Ortaöğretimini 2012 yılında Trabzon ilinde Yavuz Sultan Selim Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2013 yılında Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendis Bölümü'nde lisans eğitimine başlayıp 2017 yılında mezun oldu. Aynı yıl Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek lisans öğrenimine başladı. Orta seviyede İngilizce bilmektedir.

SCI-SCIE-AHCI Kapsamındaki Makaleleri:

Özad Düzgün, A., Okumuş, F., Saral, A., Çopur Çiçek, A. ve Cinemre, S., 2019. Determination of Antibiotic Resistance Genes and Virulence Factors in *Escherichia coli* Isolated From Turkish Patients with Urinary Tract Infection, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 52, 1-5.

Katıldığı Kongreler;

Saral, A., Okumuş, F., Çopur Çiçek, A. ve Özad Düzgün, A., 2018. Detection of β -lactamase genes and Class I Integrins in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 26-27 April, Ankara, Turkey.

Akar, Z., Karakurt, A., Okumuş, F., Cinemre, S. ve Akar, B., 2018. *Diospyros lotus L.* (Kara Hurma) Bitkisinin Meyve ve Çekirdek Kısımlarının Farklı Yöntemler ile Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 26-27 April, Ankara, Turkey.

Okumuş, F., Akar, Z., Saral, A., Çopur Çiçek, A. ve Özad Düzgün, A., 2019. Determination of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Clinical *Escherichia coli* Strains and Investigation of the Effects of Selected Plant Extracts on Quinolone-Resistant Isolates. 3. International Conference on Agriculture, Food, Veterinary and Pharmacy Sciences, 16-18 April, Trabzon, Türkiye.