



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, GÜLHANE EğİTİM VE  
ARAşTIRMA HASTANESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**KLİNİK *Proteus mirabilis* İZOLATLARINDA BİYOFİLM AKTİVİTESİNİN  
VE BİYOFİLM OLUşUMUNDAN SORUMLU GENLERİN  
ARAşTIRILMASI**

**Dr. İrem Unat**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**ANKARA/2025**





**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, GÜLHANE EĞİTİM VE  
ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**KLİNİK *Proteus mirabilis* İZOLATLARINDA BİYOFİLM AKTİVİTESİNİN  
VE BİYOFİLM OLUŞUMUNDAN SORUMLU GENLERİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Arş. Gör. Dr. İrem Unat**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Tuğrul Hoşbul**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**ANKARA/2025**

## TEŞEKKÜR

*Asistanlığım süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalanma olanağı bulduğum, tezimin planlanmasında ve gerçekleşmesinde büyük katkıları olan değerli tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Tuğrul HOŞBUL'a,*

*Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve rehberliklerini esirgemeyen Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'ndaki hocalarıma,*

*Eğitim sürecim boyunca birlikte görev yaptığım asistan hekim arkadaşlarıma,*

*Tez sürecimde kıymetli katkılarıyla yanımda olan Tuğba FATSA'ya,*

*Hayatım boyunca her zaman yanımda olan anneme, babama ve abime,*

*Sevgili eğim Taha'ya ve hayatıma neşe katan oğlum Demir'e*

*Teőekkürlerimi sunuyorum...*

*Dr. İrem UNAT*

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	İ
İÇİNDEKİLER .....	İİ
KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
TABLolar DİZİNİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	Vİİİ
ÖZET .....	İX
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TARİHÇE .....	3
2.2. <i>PROTEUS MİRABILİS</i> 'İN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ.....	4
2.3. EPİDEMİYOLOJİ .....	5
2.4. NEDEN OLDUĞU ENFEKSİYONLAR .....	5
2.4.1. İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE) .....	5
2.4.2. Yara Yeri Enfeksiyonları.....	6
2.4.3. Solunum Sistemi Enfeksiyonları.....	6
2.4.4. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları .....	7
2.4.5. Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları .....	7
2.4.6. Osteomyelit.....	7
2.4.7. Göz Enfeksiyonları.....	7
2.5. PATOGENEZ.....	8
2.5.1. Virülans Faktörleri .....	8
Üreaz .....	8
Flagella ve “Swarming” Hareketi.....	9
Kapsül .....	10
Lipopolisakkarit .....	11
Adezinler .....	11
Metalloproteaz .....	12

Hemolizin: .....	12
Metalloforlar .....	12
2.6. ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI VE DİRENÇ MEKANİZMALARI .....	13
2.6.1. $\beta$ -Laktam Direnci .....	13
2.6.2. Aminoglikozid Direnci .....	14
2.6.3. Florokinolon Direnci .....	14
2.7. BİYOFİLM.....	14
2.7.1. Tarihçe .....	15
2.7.2. Biyofilm Yapısı ve Oluşum Aşamaları .....	15
2.7.3. <i>Proteus mirabilis</i> 'te Biyofilm Oluşumu .....	17
2.7.4. Biyofilm Direnç İlişkisi .....	18
2.7.5. Biyofilm Önleme Çalışmaları .....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	20
3.1. İZOLATLARIN ELDE EDİLMESİ .....	20
3.2. İZOLATLARIN TANIMLANMASI .....	20
3.3. İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ.....	21
3.4. İZOLATLARIN SAKLANMASI .....	21
3.5. İZOLATLARIN CANLANDIRILMASI .....	21
3.6. İZOLATLARDA BİYOFİLM OLUŞUMUNUN TESPİTİ .....	21
3.7. İZOLATLARDA VİRÜLANS İLE İLİŞKİLİ GENLERİN TESPİTİ .....	23
3.7.1. DNA İzolasyonu.....	23
3.7.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu .....	23
3.7.3. Agaroz Jel Elektroforez Analizi .....	25
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	26
4. BULGULAR .....	27
4.1. HASTALARA VE İZOLATLARA AİT ÖZELLİKLER .....	27
4.2. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTİ SONUÇLARI .....	27
4.3. VİRÜLANS İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI.....	30
4.4. BİYOFİLM SONUÇLARI.....	41
5. TARTIŞMA .....	46

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	64
KAYNAKLAR .....	67
ÖZGEÇMİŞ .....	73
EK'LER .....	74
EK 1: T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI YÖNETİM KURULU KARARI: TEZ KONUSU ONAYI .....	74
EK 2: GÜLHANE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ EĞİTİM PLANLAMA KURULU (EPK) KARARI: ARAŞTIRMA İZİN ONAYI.....	76
EK 3: SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU: ETİK KURUL ONAYI.....	77

## KISALTMALAR DİZİNİ

**ABC:** ATP Bağlayıcı Kaset (ATP Binding Cassette)

**ABD:** Amerika Birleşik Devletleri

**ATF:** Ortam Sıcaklığı Fimbriyası (Ambient Temperature Fimbria)

**ATP:** Adenozin Trifosfat (Adenosine Triphosphate)

**DNA:** Deoksiribonükleik Asit

**EDTA:** Etilendiamintetraasetik Asit

**EMB:** Eosin Methylene Blue

**EPS:** Hücre Dışı Polimerik Madde (Extracellular Polymeric Substance)

**EUCAST:** Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

**GSBL:** Genişlemiş Spektrumlu  $\beta$ -laktamaz

**KKA:** Koyun Kanlı Agar

**LPS:** Lipopolisakkarit

**MALDI-TOF MS:** Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon - Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry)

**MİK:** Minimum İnhibitör Konsantrasyon

**MR/P:** Mannoz-dirençli/Proteus-benzeri Fimbriya (Mannose-resistant/Proteus-like Fimbria)

**NAF:** Aglütine Olmayan Fimbriya (Nonagglutinating Fimbria)

**NCBI:** National Center for Biotechnology Information

**OD:** Optik Dansite

**OMP:** Dış Zar Proteinleri (Outer Membrane Protein)

**PBP:** Penisilin Bağlayan Proteinler

**PBS:** Fosfat Tamponlu Salin (Phosphate Buffered Saline)

**PMF:** *Proteus mirabilis* Fimbriya

**PMP:** *Proteus mirabilis* P-benzeri Pili (Proteus mirabilis P-like Pili)

**PCR:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)

**QRDR:** Kinolon Direnç Belirleyici Gen Bölgeleri (Quinolone-resistance-determining Region)

**SPSS:** Statistical Package for the Social Sciences

**TBE:** Tris Borate Edta

**TSA:** Triptik Soya Agar

**TSB:** Triptik Soya Buyyon

**TSI:** Triple Sugar Iron

**TMP-SXT:** Trimetoprim-sülfametoksazol

**T1SS:** Tip 1 Sekresyon Sistemi

**UCA:** Üroepitelyal Hücre Adezini (Uroepithelial Cell Adhesin)

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1:</b> “Swarmer” Hücre Farklılaşmasını Etkileyen Genler .....	10
<b>Tablo 2:</b> Biyofilm Oluşturma Kapasitelerinin Sınıflandırılması .....	22
<b>Tablo 3:</b> Çalışmada Kullanılan Primerler.....	24
<b>Tablo 4:</b> PCR Bileşenleri.....	25
<b>Tablo 5:</b> Hastaların Genel Özellikleri .....	27
<b>Tablo 6:</b> İzolatların Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları .....	29
<b>Tablo 7:</b> İzolatların Karbapenem Grubu Antibiyotiklere Gösterdiği Direnç ile Virülans Genlerinin Varlığı Arasındaki İlişki.....	39
<b>Tablo 8:</b> İzolatlarda Trimetoprim-Sülfametoksazol Direnci ve Virülans Genlerinin Varlığı Arasındaki İlişki .....	41
<b>Tablo 9:</b> İzolatların Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri .....	42
<b>Tablo 10:</b> Kateterizasyon Durumuna Göre İdrar Yolu İzolatlarının Biyofilm Oluşturma Kapasitelerinin Değerlendirilmesi.....	43
<b>Tablo 11:</b> İzolatların Virülans Genlerinin Varlığı ile Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri Arasındaki İlişki .....	44
<b>Tablo 12:</b> İzolatların Antibiyotik Direnç Profili ile Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri Arasındaki İlişki .....	45

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1:</b> İzolatlarda Virülans Genlerinin Varlığı .....	31
<b>Şekil 2:</b> <i>ureC</i> Virülans Geninin Tespiti .....	31
<b>Şekil 3:</b> <i>ireA</i> Virülans Geninin Tespiti .....	32
<b>Şekil 4:</b> <i>zapA</i> Virülans Geninin Tespiti .....	33
<b>Şekil 5:</b> <i>rsbA</i> Virülans Geninin Tespiti.....	34
<b>Şekil 6:</b> <i>flaA</i> Virülans Geninin Tespiti .....	34
<b>Şekil 7:</b> <i>atfA</i> Virülans Geninin Tespiti .....	35
<b>Şekil 8:</b> <i>pmfA</i> Virülans Geninin Tespiti.....	36
<b>Şekil 9:</b> <i>ucaA</i> Virülans Geninin Tespiti.....	36
<b>Şekil 10:</b> <i>hpmA</i> Virülans Geninin Tespiti.....	37

## ÖZET

### **Klinik *Proteus mirabilis* İzolatlarında Biyofilm Aktivitesinin ve Biyofilm Oluşumundan Sorumlu Genlerin Araştırılması**

**Giriş-Amaç:** *Proteus mirabilis*, normal bağırsak florasında bulunan, idrar yolu, yara yeri, osteomyelit, göz, gastrointestinal sistem, solunum ve santral sinir sistemi enfeksiyonları gibi birçok hastalığın etkeni olduğu bilinen Gram-negatif bir bakteridir. Bu patojen, ürettiği biyofilm yapısı ile antibiyotik ve konak bağışıklık etkilerine karşı korunmakta ve kronik enfeksiyonlar oluşturabilmektedir. Biyofilm yapısının oluşumuna bakteriye ait çeşitli virülans faktörlerinin (üreaz, kapsül, fimbriya, metalloproteaz, flagella, hemolizin, metalloforlar) katkıda bulunabildiği bilinmektedir. Bu çalışmada idrar yolu ve yara yeri enfeksiyonlarından izole edilen *P. mirabilis* izolatlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri ile virülans genlerinin varlığı arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu sayede, *P. mirabilis*'e bağlı enfeksiyonlara karşı daha etkili tedavi yöntemlerinin ve uzun vadeli stratejilerin geliştirilmesine olanak tanınacaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2021- Mart 2023 tarihleri arasında idrar ve yara örneklerinden izole edilen ve stok kültür koleksiyonunda yer alan 76 adet *P. mirabilis* izolatı dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanması MALDI-TOF MS (Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi, Bruker Daltonics, Almanya) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. İzolatların antibiyotik duyarlılık testleri VITEK®2 Compact (bioMérieux, Fransa) ile Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) yönergelerine göre incelenmiştir. İzolatların biyofilm oluşturma kapasiteleri kristal viyole mikrotitre plak yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. İzolatlarda virülans genlerinin (*ureC*, *ireA*, *zapA*, *rsbA*, *flaA*, *atfA*, *pmfA*, *ucaA* ve *hpmA*) varlığı, ilgili gen bölgelerini hedef alan primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonları ile araştırılmıştır.

**Bulgular:** Yara örneklerinden elde edilen *P. mirabilis* izolatlarında idrar izolatlarına göre ampisilin, amoksisilin-klavulanat, sefriakson, sefepim ve siprofloksasine

karşı anlamlı olarak daha yüksek düzeyde direnç saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

İdrar ve yara izolatlarında sırasıyla *ireA* için %85,4 ve %85,7, *zapA* için %92,7 ve %91,4, *rsbA* ve *flaA* için %100 ve %97,1, *atfA* için %87,8 ve %88,6, *pmfA* için %97,6 ve %85,7, *ucaA* için %75,6 ve %88,6 ve *hpmA* için %95,1 ve %94,3 oranında pozitiflik saptanmış ve *ureC* bütün izolatlarda pozitif tespit edilmiştir. İdrar ve yara izolatları arasında virülans genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Karbapenemlere duyarlı ve orta duyarlı izolatlarda *rsbA* geni (%100), trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SXT) dirençli izolatlarda ise *pmfA* (%100) ve *hpmA* (%100) genleri anlamlı olarak daha sık tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

İdrar ve yara izolatlarında sırasıyla %58,5 ve %45,7 oranında zayıf, %36,6 ve %20 oranında orta ve %4,9 ve %34,3 oranında güçlü düzeyde biyofilm üretimi saptanmıştır. Yara izolatlarının anlamlı olarak daha güçlü düzeyde biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir ( $p=0,004$ ). İdrar örneği alınan hastaların ise %24,4'ünün kateterize edildiği ve kateterize edilen hastaların %80'inin orta ve güçlü düzeyde biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. Tüm izolatlar arasında orta ve güçlü düzey biyofilm üreticilerinde, zayıf düzey biyofilm üreticilerine kıyasla *zapA*, *atfA*, *pmfA* ve *ucaA* genleri anlamlı olarak daha sık tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Orta-güçlü düzey biyofilm üreticilerinde zayıf düzey üreticilere göre siprofloksasin ve TMP-SXT direncinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** *P. mirabilis*'e bağlı enfeksiyonlarda ampirik tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı direnç hızla artmaktadır. Özellikle yara yeri enfeksiyonları ve kateter ile ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarında biyofilm oluşumu, tedavi sürecini oldukça karmaşık hale gelmektedir. Bu noktada, *P. mirabilis*'in virülans genlerinin biyofilm üretimi üzerindeki etkilerinin ayrıntılı bir şekilde incelenmesi, antibiyotik tedavisine dirençli biyofilm yapısını hedef alan yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Proteus mirabilis*, virülans faktörleri, biyofilm, antibiyotik direnci

## ABSTRACT

### **Investigation of Biofilm Activity and Biofilm-Associated Genes in Clinical *Proteus mirabilis* Isolates**

**Introduction-Objective:** *Proteus mirabilis* is a Gram-negative bacteria commonly found in the normal gut flora, which is known to be the causative agent of various infections including urinary tract, wound, osteomyelitis, eye and gastrointestinal, respiratory and central nervous system infections. This pathogen is protected against antibiotics and host immune responses by its biofilm structure, enabling the formation of chronic infections. It is known that various virulence factors (urease, capsule, fimbria, metalloproteases, flagella, hemolysin, metallophores) contribute to the biofilm formation. This study aims to investigate the relationship between the biofilm forming capacity of *P. mirabilis* isolates from urinary system and wound infections and the presence of virulence genes. This will help in the development of more effective treatment methods and long-term strategies for *P. mirabilis*-associated infections.

**Materials and Methods:** The study included 76 *P. mirabilis* isolates obtained from urinary and wound samples collected at the Medical Microbiology Laboratory of Gülhane Education and Research Hospital, between January 2021 and March 2023, which were stored in the stock culture collection. The identification of the isolates was performed using MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry, Bruker Daltonics, Germany). Antibiotic susceptibility testing of the isolates was performed using the VITEK®2 Compact (bioMérieux, France) according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) guidelines. Biofilm formation capacities of the isolates were measured using the crystal violet microtiter plate method. The presence of virulence genes (*ureC*, *ireA*, *zapA*, *rsbA*, *flaA*, *atfA*, *pmfA*, *ucaA*, and *hpmA*) was investigated by polymerase chain reactions using primers targeting the relevant gene regions.

**Results:** *P. mirabilis* isolates obtained from wound samples exhibited significantly higher resistance to ampicillin, amoxicillin-clavulanate, ceftriaxone,

cefepime, and ciprofloxacin compared to urinary tract isolates ( $p < 0.05$ ).

The presence of virulence genes was detected as follows in urinary and wound isolates, respectively; for *ireA*, 85,4% and 85,7%; for *zapA*, 92,7% and 91,4%; for *rsbA* and *flaA*, 100% and 97,1%; for *atfA*, 87,8% and 88,6%; for *pmfA*, 97,6% and 85,7%; for *ucaA*, 75,6% and 88,6%; and for *hpmA*, 95.1% and 94.3%. *ureC* was detected positive in all isolates. No statistically significant difference was observed in the presence of virulence genes between urinary and wound isolates ( $p > 0,05$ ). *rsbA* gene was found significantly more often in carbapenem-susceptible and intermediate-susceptible isolates (100%), while *pmfA* (100%) and *hpmA* (100%) genes were significantly more common in trimethoprim/sulfamethoxazole-resistant isolates ( $p < 0.05$ ).

Biofilm forming capacity was determined as weak in 58,5% and 45,7%, moderate in 36,6% and 20%, and strong in 4,9% and 34,3% of urinary and wound isolates, respectively. Wound isolates were found to form significantly stronger biofilms compared to urinary isolates ( $p = 0.004$ ). In urinary samples, 24,4% of the patients were catheterized, and 80% of these catheterized patients formed moderate and strong biofilms. Among all isolates, *zapA*, *atfA*, *pmfA*, and *ucaA* genes were significantly more frequent in moderate and strong biofilm producers compared to weak biofilm producers ( $p < 0,05$ ). Moderate and strong biofilm producers showed significantly higher resistance to ciprofloxacin and trimethoprim/sulfamethoxazole compared to weak biofilm producers ( $p < 0,05$ ).

**Conclusion:** Antibiotic resistance to empirical treatments in *P. mirabilis*-associated infections is rapidly increasing. Biofilm formation, particularly in wound infections and catheter-associated urinary tract infections, complicates the treatment process. In this context, a detailed understanding of the impact of *P. mirabilis* virulence genes on biofilm production and the development of new treatment strategies targeting antibiotic-resistant biofilm structures are crucial for effectively preventing these infections.

**Keywords:** *Proteus mirabilis*, virulence factors, biofilm, antibiotic resistance

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

*Proteus mirabilis*, normal bağırsak florasında bulunabilen, idrar yolu enfeksiyonu (İYE), ürolitiazis, yara enfeksiyonu, yenidoğan menenjit, sepsis ve romatoid artrit gibi birçok hastalığın etkeni olduğu bilinen fırsatçı bir enfeksiyöz ajandır. Sahip olduğu biyofilm oluşturma yeteneği, katı yüzeyler üzerindeki “swarming” hareketi, metalloproteaz, hemolizin, fimbriya ve üreaz gibi virülans faktörleri ve bu faktörleri kodlayan genler patojenite ile ilişkilendirilmektedir (1). Biyofilm, mikroorganizmaların canlı ya da cansız yüzeylere yapışma sonrası, konak bileşenlerinden ve mikrobiyal yapılardan oluşan hücre dışı polimerik madde (EPS) ile kendilerini çevreleyerek oluşturduğu kompleks, yapılandırılmış ve toplu yaşam biçimleridir. Biyofilm sayesinde mikroorganizmaların zorlu çevre koşullarında hayatta kalabildiği, konak immünesinden kaçabildiği ve antibiyotik etkisinden korunabildiği bilinmektedir (2). *P. mirabilis*'in sahip olduğu metalloproteaz ve üreaz enzimleri, “swarming” hareketi, fimbriya ve flagella yapısı ve toksin üretimi gibi virülans faktörlerinin biyofilm oluşumuna ve dolayısıyla antibiyotik direncine katkıda bulunduğu bildirilmektedir (3). Literatürde, *P. mirabilis*'in biyofilm oluşturma kapasitesine yönelik çeşitli çalışmalar bulunmakta, bu çalışmalar moleküler mekanizmalar, spesifik genler (ör. *mrpA*, *pmfA*, *ucaA*, *ompA*, *rsbA*, *zapD*, *katA*, *rffG*, *flhDC* gibi) ve sinyal yolları üzerine odaklanmaktadır. Bununla birlikte klinik isolatlar ile yürütülen çalışmaların sonuçlarının çeşitlilik gösterdiği, isolatlar arasında biyofilm oluşturma kapasitesi açısından farklılıklar bulunduğu, biyofilm oluşumunun enfeksiyon tedavisinde ve yönetiminde önemli engeller oluşturduğu ve bu mekanizmaları hedef alan müdahalelerin potansiyel olarak etkili olabileceği öne sürülmektedir (4).

Bu çalışmaya, Ocak 2021-Mart 2023 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen idrar ve yara örneklerinden izole edilmiş ve -80°C' de stok halde saklanan *P. mirabilis* isolatları dahil edilmiştir. Bu çalışmada, isolatların biyofilm oluşturma yeteneğinin fenotipik ifadesi ve ilgili virülans genlerinin (*ucaA*, *zapA*, *rsbA*, *flaA*, *hpmA*, *ureC*, *atfA*, *ireA*, *pmfA*) varlığı analiz edilecektir. Çalışmamızın *P. mirabilis*

izolatlarında biyofilm oluşumu ve diğer virülans mekanizmaları arasındaki ilişkinin araştırılması ile, bu enfeksiyonlara karşı olan mücadelede akılcı ve ampirik ilaçların kullanımına ve enfeksiyonlarının tedavisine yönelik uzun vadeli stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunacağı kanaatindeyiz.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. TARİHÇE

Alman mikrobiyolog Gustav Hauser tarafından 1885 yılında keşfedilen bu mikroorganizma, ismini Pharos Adasında yaşayan, deniz tanrısı Poseidon'un oğlu olduğuna inanılan ve düşmanlarından kaçmak için şekil ve form değişikliğinde bulunabilen *Proteus*'tan almıştır. Bu ismin günümüze yansması olan "Protean" ise, değişken ve çok yönlü anlamlarına gelmektedir. *Proteus* spp., sıvı ve katı yüzeyler gibi çeşitli ortamlarda değişken koşullara uyum sağlayarak karakteristik metabolik özellikler sergileyebilmektedir (5). Bu anlamlarından dolayı 1983 yılında Wiedemann ve arkadaşlarının değişken tezahürler gösteren (el ve ayakta parsiyel gigantizm, kol ve bacadaki asimetri, hemanjiyom, lipom, varisler, makrosefali, kranial hiperostoz, uzun kemiklerde hipertrofi) bir sendromu "Proteus sendromu" olarak tanımlaması ve ünlü "Elephant Man" olarak bilinen Joseph Merrick'in hastalığının da Proteus sendromu olduğu düşünülmesi dikkat çekmektedir (6).

*Proteus* cinsi, ilk keşfedildiğinde *Enterobacteriaceae* ailesine dahil edilse de 2016 yılında yürütülen kapsamlı genomik ve filogenetik analizler ile yeniden sınıflandırılarak *Enterobacterales* takımına ait *Morganellaceae* ailesine dahil edilmiştir (4). Gustav Hauser, jelatini sıvılaştırma hızına göre bu cinse ait *P. mirabilis* ve *P. vulgaris* olmak üzere 2 tür tanımlamıştır. Wenner ve Rettger, 1919 yılında Hauser'in bulgularını doğrularak fermentasyon yeteneklerine göre *P. vulgaris* ve *P. mirabilis* ayrımını gerçekleştirmiştir. Hickman ve arkadaşları, 1982 yılında, indol üretimi, salisin fermentasyonu ve eskülin negatif özellikleri ile tanımlanan *P. vulgaris* biyogrup 1'i *P. penneri* olarak isimlendirmiş, Costas ve ark. ise 1993 yılında *P. vulgaris* biyogrup 2, 3a ve 3b'yi tanımlamıştır. O'Hara ve arkadaşları 1994 yılında fenotipik karakterizasyon, hibridizasyon çalışmaları ve fermentasyon yeteneklerine göre *P. vulgaris* biyogrup 3'ü dört genotipe ayırmış ve genotip 3'ü *P. hauseri* olarak yeniden tanımlamıştır. Cosenza ve Podgwaite 1966'da *Lymantria dispar* (çingene güvesi) larvalarında *P. myxofaciens* adlı ayrı bir tür izole etmişler fakat 2011 yılında yürütülen filogenetik analizler sonucu bu türün *Cosenzaea* adı verilen yeni bir bakteri cinsine dahil edilmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir (7,8). Yapılan yeni

çalışmalarda, Kore fermente deniz ürünü “Jeotgal” içinde *P. cibarius* sp. nov. (2016), bataklık alan topraklarından izole edilen örneklerde *P. terrae* sp. nov. (2015), Çin’de gıda örneklerinde *P. faecis* sp. nov., *P. cibi* sp. nov., *P. alimentorum* sp. nov. ve *P. columbae* sp. nov. (2019) olmak üzere yeni türlerin keşfedildiği bildirilmiştir (9–13).

## 2.2. *Proteus mirabilis*’İN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

*Proteus* spp. içinde tüm enfeksiyonların %80-90’ını oluşturması sebebiyle *P. mirabilis* özellikle dikkat çeken bir türdür. *P. mirabilis*, doğal olarak insan ve hayvanların gastrointestinal florasında, çevrede ise toprak, su ve kanalizasyonlarda bulunabilen, fakültatif anaerop, katalaz, üreaz, fenilalanin deaminaz ve metil kırmızısı testi pozitif, 22°C’de jelatini hidrolize edebilen, Triple Sugar Iron (TSI) agarda hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S) üretebilen ve katı yüzeyler üzerinde “swarming” hareketi gösterebilen Gram-negatif bir bakteridir (3,7). *P. mirabilis*, ornitin dekarboksilaz pozitif, oksidaz ve spot indol testi negatif olması ile diğer *Proteus* türlerinden ayrılmaktadır. Ayrıca *P. mirabilis*’in, glukozu hızla fermente ederken sükrozu yavaş bir şekilde fermente ettiği ve maltoz ile laktozu fermente etmediği, arjinin dekarboksilaz, malonat kullanımı, dulsitol, d-sorbitol ve l-arabinozdan asit üretimi açısından negatif olduğu bilinmektedir (7).

Sıvı yüzeyler üzerinde sahip olduğu kısa peritrik flagellalar sayesinde yüzme hareketi gösteren *P. mirabilis*, katı yüzeyler ile karşılaştığında uzun, çok çekirdekli ve çok sayıda flagellaya sahip “swarmer” hücrelere dönüşebilmekte ve “Bulls’eye” görünümünde koloniler oluşturmaktadır. “Swarming” fenomeni *Proteus* spp.’ye özgül olmamakla birlikte *Serratia* spp., *Vibrio* spp., *Bacillus* spp. ve *Clostridium* spp. gibi diğer bakteri cinslerinde de görülebilmektedir (14). Bakterinin ayrıca üreaz enzimi ile üreden karbondioksit ve amonyak üreterek ortam pH’ını yükselttiği, fimbriyal adezinleri ile mesane epitel hücresi dahil çeşitli mukozal yüzeylere tutunabildiği, salgıladığı EPS içeren biyofilm yapısı sayesinde kendini antimikrobiyal ajanlardan ve konak immun cevabından koruyabildiği, hemolizin sitotoksini ile ökaryotik hücrelerde porlar oluşturabildiği, sideroforlar ile metabolizması için gerekli demir sekestrasyonunu gerçekteştirebildiği ve ZapA metalloproteinaz ile IgA1, IgA2 ve IgG antikorlarını parçalayabildiği bilinmektedir (15).

## 2.3. EPİDEMİYOLOJİ

Üriner sistem, yara yeri, gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve göz gibi birçok bölgede enfeksiyona sebep olduğu bildirilen *P. mirabilis*, fırsatçı bir patojen olarak tanımlanmakta ve tüm nozokomiyal enfeksiyonların %3-5'ini oluşturmaktadır. (8,15). Ayrıca, Gram-negatif sepsis vakalarında *P. mirabilis*'in %5-18 oranında izole edildiği ve yaşlı, komorbiditeleri bulunan hastalarda %50'ye varan mortalite oranlarının görüldüğü raporlanmıştır (16). Bu mikroorganizmanın, sağlıklı kadınlarda İYE vakalarının %1-2'sinden ve hastanede yatan kadın hastalarda ise nozokomiyal İYE vakalarının %5'inden sorumlu olduğu bilinmektedir. Komplike (idrar yolundaki anatomik anomaliler, tıkanıklık, nörolojik hastalıklara bağlı üriner retansiyon, bağışıklık sistemini baskılayan organ nakli ve hamilelik gibi durumlar, taş, kalıcı kateter gibi yabancı cisimlerin varlığı) hastalarda gözlenen İYE vakalarında *P. mirabilis*, tedavisi zor bir enfeksiyon etkeni olarak dikkatleri üzerine çekmekte ve uzun dönem kateterize hastalarda komplike üriner sistem enfeksiyonlarının %44'ünde baskın mikroorganizma olarak tespit edilmektedir (15). Bunlar dışında, literatürde daha nadir olmakla birlikte neonatal meningoensefalit, ampiyem ve osteomyelit vakaları da bildirilmiştir (7).

## 2.4. NEDEN OLDUĞU ENFEKSİYONLAR

### 2.4.1. İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE)

*Proteus mirabilis*, sağlıklı insanlarda toplum kökenli İYE'lerde izole edilebilmekle birlikte, özellikle üriner sisteminde yapısal anomali bulunan ya da uzun süreli kateter kullanımı olan hastalarda önemli bir enfeksiyon etkenidir. Periüretral bölge birçok mikroorganizma ile kontamine olan bir alan olmasına rağmen miktürasyon sırasında oluşan hızlı akış ve ürotelyal epitelin koruyucu etkisi sayesinde enfeksiyonların çoğu önlenmektedir. Buna karşılık üriner kateter yerleştirilmesi sırasında bu doğal koruyucu mekanizmaların etkisinin azaldığı, ürotelyal epitelin zarar gördüğü, mukozal ve submukozal yırtıkların oluştuğu, hızlı akış yerine sürekli ve yavaş idrar akışının oluştuğu ve mesane içinde 10-100 ml kadar idrarın birikebildiği gözlenmektedir. Enfeksiyon riskinin, özellikle kateterin kalış süresine bağlı olarak değiştiği ve kısa dönem kateterize

(1-7 gün) edilen hastaların %10-50 kadarında bakteriüri görülürken, uzun dönem kateterize edilen hastaların (>28 gün) kaçınılmaz olarak birden çok Gram-negatif bakteri ile (*P. mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*) enfekte hale geldiği gözlenmiştir (17). *P. mirabilis*'e bağlı İYE vakalarında, bakterinin sahip olduğu üreaz enzimi sayesinde ortam pH'sını yükselterek mesane ve böbrekte strüvit (magnezyum amonyum fosfat), apatit (kalsiyum fosfat) ve tüm renal pelvisi dolduran "staghorn" (geyik boynuzu) taşlarının oluşabilmesi dikkat çeken bir özelliktir. Yapılan çalışmalarda, bakteri kaynaklı ürolitiazis vakalarının %70'inde *P. mirabilis*'in izole edildiği raporlanmakta ve taş oluşumu sonrası mikroorganizmanın kateter lümeninde tıkanıklığa, üriner retansiyona ve vezikoüreteral reflüye sebep olarak sistit, piyelonefrit ve sepsise varan ölümcül enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir (18).

#### **2.4.2. Yara Yeri Enfeksiyonları**

*Proteus mirabilis*'e bağlı yara yeri enfeksiyonlarının genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde, diyabet hastalarında veya kronik yara enfeksiyonu olan kişilerde sık olarak görülebildiği raporlanmaktadır (19). Literatürde, *P. mirabilis*'in diyabetik ayak, cerrahi yara ve yanık yarası enfeksiyonları, kalça, aksilla ve genitoüriner bölgedeki deri apseleri, intertrigo, progresif bakteriyel gangren, miyonekroz ve nekrotizan fasiit vakalarından izole edildiği bildirilmiştir (19–23). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda yara yeri enfeksiyonlarından izole edilen *P. mirabilis* izolatlarının kazanmış olduğu antimikrobiyal direnç sebebiyle vakaların komplike olduğu ve yara enfeksiyonu kontrolünün çok daha zor hale geldiği bildirilmektedir (22).

#### **2.4.3. Solunum Sistemi Enfeksiyonları**

*Proteus mirabilis*'e bağlı solunum sistemi enfeksiyonları çok sık görülmemekle birlikte kronik akciğer hastalığı veya böbrek yetmezliği olan, alkolik, yaşlı, uzun süre florokinolon, sefalosporin, kortikosteroid ve immünsupresif ajan kullanmış ve mekanik ventile edilen hastalarda sporadik pnömoni vakaları bildirilmiştir (24).

#### **2.4.4. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları**

*Proteus mirabilis* aracılı santral sinir sistemi enfeksiyonları, genelde yenidoğan ve infantlarda görülmekle birlikte, nöroşirürjik operasyon geçirenlerde, post travmatik hastalarda veya diyabet, siroz ve kanser gibi komorbid hastalıkları bulunan erişkinlerde spontan bakteriyel menenjit vakaları bildirilmiştir (25). Bunun dışında beyin apsesi ve intramedüller spinal kord apsesi gibi hayatı tehdit edici enfeksiyonlara neden olabildiği ve özellikle otojenik kökenli beyin apselerinde en çok izole edilen mikroorganizmanın *P. mirabilis* olduğu raporlanmıştır (26).

#### **2.4.5. Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları**

*Proteus* türleri, insan gastrointestinal sisteminin kommensal üyesi olarak tanımlanmakla birlikte, özellikle Crohn hastalarında intestinal rezeksiyon sonrası potansiyel bir enfeksiyon ajanı olarak tespit edilmiştir. Literatürde spontan ve gıda aracılı gastroenterit, Crohn hastalığı, biliyer sistem enfeksiyonları, hastane kaynaklı enfeksiyonlar, apandisit, nazogastrik tüplerin, perkütan endoskopik gastrotomilerin, ventriküloperitoneal şantların, biliyer ve pankreatik stentlerin ve trakeo-özefajiyal konuşma protezlerinin kolonizasyonu gibi durumlar bu mikroorganizma ile ilişkilendirilmektedir (27).

#### **2.4.6. Osteomyelit**

*Proteus mirabilis*, nadir olmakla birlikte yaşlı, immünsupresif tedavi alan, komorbid hastalıkları bulunan bireylerde, diyabetik hastalarda periferik vasküler yetmezliğe bağlı ayak ülserlerinin enfekte olması sonucu gelişen osteomyelit vakalarında etken olarak tanımlanmıştır (28). Ayrıca, bakterinin üriner sistemden vertebraya Batson pleksusu aracılığıyla yayılabildiği ve spinal osteomyelite neden olabildiği bildirilse de son 75 yılda 30'dan az vaka raporlandığı dikkat çekmektedir (29).

#### **2.4.7. Göz Enfeksiyonları**

Gözdeki koruyucu bariyerin bozulduğu durumlarda, göz travmalarında, postoperatif vakaların komplikasyonu olarak veya kontakt lens kullanımı sonucu *P.*

*mirabilis*'e bağlı keratit, preseptal selülide kadar ilerleyebilen dakriyosistit, konjunktivit ve endoftalmit vakaları bildirilmiştir. Bu enfeksiyonlar nadir olmakla birlikte gözde ciddi enfeksiyonlara ve kalıcı hasarlara yol açabilmesi nedeniyle klinik önem taşımaktadır (30).

## 2.5. PATOGENEZ

*Proteus mirabilis*, kolonizasyonu ve enfeksiyon oluşturma yeteneğini artırmaya yardımcı bir dizi virülans faktörüne sahiptir. Bu patojen, konak doku ve hücrelerde hasar oluşumuna sebep olarak dokular arası yayılımı kolaylaştıran hemolizin, hareketliliği sağlayan flagella (kamçı), konak savunma proteinlerini parçalayan proteazlar, üreaz enzimi, fimbriyal yapılar, konak immün sisteminden ve antimikrobiyal ajanların etkisinden kaçışa yardımcı olan biyofilm tabakası gibi çeşitli virülans faktörleri ve konak savunma mekanizmalarından kaçma stratejileri sayesinde hayatı tehdit edici enfeksiyonların oluşumuna sebep olabilmektedir. Özellikle ortam pH'sını düzenleyen üreaz enzimi ve üroepitelyal hücrelere yapışmasını sağlayan fimbriyal yapılar, kateter aracılı İYE gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır (15).

### 2.5.1. Virülans Faktörleri

**Üreaz:** *P. mirabilis*, üre ile indüklenebilen bir nikel metalloenzimi olan üreaz yardımıyla üreyi karbondioksit ve amonyağa dönüştürerek kendisi için gerekli azotu üretmekte ve idrar pH'sını alkali yöne çevirmektedir. Oluşan güçlü alkali ortam, memeli hücrelerine doğrudan toksik etki göstererek doku hasarına yol açabilmekte ve ortamda normalde çözünür durumda olan kalsiyum ve magnezyum iyonlarının presipitasyonunu tetikleyerek dikkat çekici büyüklükte magnezyum amonyum fosfat ve kalsiyum fosfat kristallerinin oluşumuna neden olmaktadır (31). Ayrıca oluşan kristallerin gelişmekte olan biyofilm tabakasına entegre olarak üreolitik biyomineralizasyon adlı bir süreci başlattığı ve bu yapının kateter tıkanıklıklarına sebep olduğu bilinmektedir (3).

Üreaz gen kümesi, *ureABC*, *ureDEFG* ve *ureR* bölgelerinden oluşmaktadır. İnaktif apoenzimin yapısal alt birimlerinin birleşmesi için gerekli proteinleri *ureABC*, esansiyel nikel iyonunun enzim katalitik bölgesine eklenmesi için gerekli proteinleri *ureDEFG*

bölgesi kodlamakta, *ureR* ise gen regülasyonunu kontrol etmektedir. UreR proteini, üre varlığında üreaz gen kümesinin ekspresyonunu aktive eden AraC/XylS ailesine ait bir transkripsiyonal düzenleyicidir. Ürenin 491 baz çifti uzunluğundaki *ureR-ureD* intergenik bölgesinde bulunan *ureR* ve *ureD* promoter bölgelerine bağlanmasını sağlar ve transkripsiyonu aktifleştirir. UreR yokluğunda üreaz ekspresyonunun gerçekleşmediği ve özellikle *P. mirabilis*'e bağlı İYE'lerin tedavisinde hedef ajan olarak kullanılabilceği öne sürülmektedir (32).

**Flagella ve “Swarming” Hareketi:** *P. mirabilis* sıvı kültürler üzerinde, her biri 2 µm uzunluğunda, 4 ila 10 arası peritrik flagellaya sahip olma özelliği göstermektedir. Bu yapılar, hücreleri sıvı içerisinde ileri doğru itme görevini üstlenmekte ve bakterinin hareketliliğini sağlamaktadır. Katı yüzeyler ile karşılaştığında ise, koloni kenarlarındaki vejetatif hücreler uzun (20-80 µm), çok çekirdekli ve çok sayıda flagellaya sahip “swarmer” hücrelere farklılaşmaktadır. Farklılaşma sonrası 30-45 dakika süren bir lag periyodu ardından hücreler arası etkileşimler aracılığıyla çok hücreli köprüler oluşturularak koordineli göç hareketi başlatılmaktadır (15,33). Bu hareket sırasında hücreler, belirli aralıklarda vejetatif haline (kısa çubuk hücreleri, “swimmer” hücreler) geri farklılaşmakta ve bu olay konsolidasyon fazı olarak bilinmektedir. Bu tekrarlayan farklılaşma, lag periyodu, göç ve konsolidasyon fazları, karakteristik “Bulls’eye” görünümünde koloniler oluşmasına neden olmaktadır (34). “Swarming” hareketinin, *P. mirabilis*'in periüretal bölgeden mesaneye geçişini kolaylaştırarak enfeksiyonun başlamasına zemin hazırladığı bilinmektedir. Ayrıca, “swarming” sırasında bakterinin vejetatif hücrelere kıyasla virülans faktörlerini (üreaz, metalloproteaz ve hemolizin gibi) çok daha yüksek seviyede eksprese ettiği bilinmektedir (3). *P. mirabilis*'e spesifik olmayan “swarming” hareketi, *Bacillus*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Serratia* ve *Pseudomonas* cinsi bakterilerde de görülebilmektedir (34). “Swarming” fenomeninin gerçekleşebilmesi için mikroorganizmada flagella ve kemotaksis yeteneğinin olması gerektiği ve lipopolisakkarit yapısı (LPS), hücre dışı matriks bileşenleri, hücre zarı yağ asitleri ve glutamin, putresin, arjinin, histidin ve ornitin gibi hücre dışı moleküllerin de katı yüzeyler üzerindeki harekete yardımcı etki gösterebileceği belirtilmektedir

(15,34,35). Transpozon mutajenezi çalışmaları sonucunda, birçok gen ürününün “swarmer” hücrelerinin farklılaşmasını etkilediği ortaya konmuştur (34). “Swarmer” hücrelerinin farklılaşmasını etkileyen genler ve gen ürünlerinin fonksiyonları Tablo 1’de özetlenmiştir.

**Tablo 1:** “Swarmer” Hücre Farklılaşmasını Etkileyen Genler

Gen	Fonksiyonu	Kaynakça
“Swarmer” hücre farklılaşmasını aktive eden genler		
<i>hpmA</i>	Hemolizin	(34)
<i>flaA</i>	Flagellar protein	(36)
<i>flhDC</i>	Erken flagellar genler için heterotetramerik transkripsiyon aktivatörü	(35)
“Swarmer” hücre farklılaşmasını mutasyon ya da aşırı ekspresyon durumlarında aktive eden genler		
<i>umoA, umoB, umoC, umoD</i>	Flagellar ana operon düzenleyicileri	(35)
<i>mrpJ</i>	Fimbriyal proteinler	(35)
<i>rsbA</i>	Histidin fosfotransferaz	(33)

**Kapsül:** Kapsül yapısı, bakteriyi fagositoz ve serumdaki antimikrobiyal etkili moleküllere karşı korumakta ve bakterinin yüzeylere tutunmasına yardımcı olmaktadır. *P. mirabilis*’e ait tanımlanmış kapsülün asidik polisakkarit yapıda olması sebebiyle mineralizasyon ve kristal oluşumuna yardımcı olduğu ve ürolitiazise zemin hazırladığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda asidik kapsüller polisakkarit varlığında *P. mirabilis*’in  $Mg^{2+}$  gibi metal katyonların presipitasyonu ve strüvit taşı oluşumunu daha düşük pH ortamında gerçekleştirebildiği görülmektedir (37). Kapsüller polisakkarit yapısının “swarming” hareketi üzerinde de belirgin etkisi olduğu, bu yapıda bozukluğa sebep olan

koloni göç faktörü geni (*cmfA*) mutasyonlarının bakterinin “swarming” hızını belirgin olarak azalttığı raporlanmıştır (38).

**Lipopolisakkarit:** LPS yapısı, endotoksik glikolipit A (Lipid A), majör yüzey antijeni olan ve serolojik spesifiteyi sağlayan O-polisakkarit zinciri (O antijeni) ve kor oligosakkarit bölgesinden oluşmaktadır. *P. mirabilis* ve *P. vulgaris*'e ait 60 serogrup tanımlanmıştır. LPS, konak bağışıklık yanıtını tetiklemekle birlikte antimikrobiyal peptidlere karşı olan direnç ile ilişkilendirilmiş ve LPS yapısında meydana gelen değişikliklerin *P. mirabilis*'in “swarming” hareketini etkileyebildiği raporlanmıştır (39).

**Adezinler:** Konak hücre ya da kateter yüzeylerindeki konak hücreye ait protein, glikoprotein, glikolipit ve karbonhidrat gibi ekstraselüler yapıları ve konak hücre reseptörlerini algılaması, hücre membranı ve yüzeyler arasındaki elektrostatik itme kuvvetlerine karşı gelerek tutunmayı ve konak immün sisteminden kaçışı sağlaması nedeniyle adezinler *P. mirabilis* için oldukça önem taşıyan virülans faktörlerinden biridir (40). Eğer adezinler, hücre zarına direkt olarak bağlıysa nonfimbriyal adezin, fırça benzeri (hair-like) uzantıların ucunda yer alıyorsa fimbriya ya da pili olarak adlandırılmaktadır (40). *P. mirabilis*'e ait mannoz dirençli *Proteus* benzeri fimbriya (Mannose-resistant *Proteus*-like fimbriae, MR/P), üroepitelyal hücre adezini (UCA) ya da aglutine olmayan fimbriyalar (NAF), *P. mirabilis* fimbriya (PMF), ortam sıcaklığı fimbriyaları (ATF) ve *P. mirabilis* P-benzeri pili (PMP) olarak isimlendirilen 5 adet fimbriya yapısı tanımlanmakla birlikte yapılan genom analizleri sonucunda 12 adet ek şaperon-öncü fimbriyal operonu raporlanarak toplam sayı 17'ye ulaşmıştır. Bu, şimdiye kadar keşfedilen bir bakteri türünün kodladığı en yüksek fimbriya sayısı olması nedeniyle oldukça önem taşımaktadır (41). *P. mirabilis*'in sahip olduğu fimbriyal operonlar, “swarming” hareketi sırasında genellikle daha az eksprese edilmekte ve fimbriyal ekspresyonun arttığı durumlarda flagellar hareketin kısıtlandığı gözlenmektedir. Mikroorganizma sahip olduğu bu eşsiz yapı sayesinde farklı koşullarda formunu yapışma ya da yüzmeye uygun olarak değiştirebilmekte ve bu kararı verme sürecinin mikroorganizmanın yaşam tarzının merkezinde olduğu bilinmektedir (41).

**Metalloproteaz:** *P. mirabilis*'in salgıladığı ZapA, yapısında iki değerlikli metal iyonları ( $Mg^{+2}$  ve  $Ca^{+2}$ ) ve çinko (Zn) bulunan, serralizin ailesine bağlı bir ekstraselüler metalloproteazdır. Bu proteazın insan immünoglobülin A1 (IgA1), IgA2 ve IgG'yi parçaladığı bilinmekle birlikte yapılan son çalışmalarda IgA'nın ZapA için iyi bir substrat olmadığı, ZapA'nın aslında geniş bir substrat spesifitesi gösterdiği, doğal immün yanıtta rol alan defensin ya da matriks proteinleri gibi konak hücrelerinin yapısal proteinlerini yok ettiği ve fibrinolitik aktivite gösterdiği raporlanmıştır (42). Patojenitede önemli bir rol oynayan bu virülans faktörünün "swarming" hareketi sırasında gen ekspresyonunun arttığı ve "swarming" hareketini sağlayan hücre içi sinyal yollarında rol aldığı bildirilmiştir (43).

**Hemolizin:** Hemolizinler, eritrosit membranında porlar oluşturarak hücre içi ve hücre dışı iyon dengesinin bozulmasına, hemoglobinin serbest kalmasına ve nihayetinde hücre ölümüne sebep olan toksinlerdir. *P. mirabilis*'in sahip olduğu,  $Ca^{+2}$  bağımsız olarak aktivasyon gösterebilen hemolizinler, *hpmA* ve *hpmB* adlı iki gen tarafından kodlanmakta ve çekirdekli ve çekirdeksiz hücreler üzerinde geniş sitolitik aktivite gösterebilmektedir. HpmA aktivitesi sonucu doku ve böbrek invazyonu gerçekleştirebilmekte ve özellikle İYE'lerde ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır (44).

**Metalloforlar:** Metalloforlar sayesinde *P. mirabilis*, bakteriyel büyüme ve virülans için kritik olan demir, çinko, nikel ve manganez gibi temel metalleri bağlayarak enfeksiyon bölgesinde çoğalma ve hayatta kalma yeteneğini arttırmaktadır. Üreaz apoenziminin aktivite gösterebilmesi için gerekli nikel metalinin hücre membranından geçişini sağlayan ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıları ya da nikel/kobalt permeaz; bakterinin enzimatik süreçlerde kofaktör olarak kullandığı çinko iyonlarını hücre içine taşımak için *znuACB*; oksijen transportu, DNA sentezi ve oksidatif stresin yönetimi gibi hayati süreçlerde yer alan ve insan vücudunda sınırlı kaynakta bulunan demir elementinin hücre içine alımını arttırmak için siderofor, hemofor, demir ( $Fe^{+2}$ ) iyon transportu ve metal tipi ABC taşıyıcıları gibi sistemlere sahiptir (15).

## 2.6. ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI VE DİRENÇ MEKANİZMALARI

*Proteus mirabilis* izolatlarında antibiyotik direnci gösteren izolatların hızla artışının mevcut tedavi seçeneklerinin yetersiz kalmasına ve enfeksiyonların kronikleşmesine sebep olduğu bilinmektedir. *P. mirabilis*'in doğal olarak kolistine, nitrofuranlara, tetrasikline ve tigesikline dirençli olduğu bilinmekte ve bu durum tedavi seçeneklerini oldukça sınırlandırmaktadır (8). *P. mirabilis*'e bağlı enfeksiyonların tedavisinde  $\beta$ -laktam antibiyotikler ilk tercih olarak kullanılmakla birlikte plazmidler, insersiyon dizileri, transpozonlar ve integronlar aracılığıyla *P. mirabilis*'in antimikrobiyal direnç genlerini edinebildiği ve geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlar, florokinolonlar, aminoglikozidler ve trimetoprim-sülfametoksazole karşı direnç geliştirebildiği bilinmektedir (45). Ayrıca Proteus Genomik Ada 1 (PGI1) denilen, çoklu antibiyotik direnç genlerini taşıyan kompleks sınıf 1 integron gen kümesinin keşfi, *Proteus*'un *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri arasında da antimikrobiyal direnç genlerinin yayılmasına katkıda bulunduğunu ispatlamaktadır (46). Test edilen bütün antibiyotik ajanlara dirençli pan-rezistan *P. mirabilis* izolatlarının bildirilmesi, enfeksiyon yönetimini zorlaştırmakta ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır (47).

### 2.6.1. $\beta$ -Laktam Direnci

*Proteus mirabilis*, kromozomal olarak kodlanan bir  $\beta$ -laktamaza sahip değildir. Bununla birlikte klavulanik asit ile inhibe olan, plazmid aracılı TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi  $\beta$ -laktamazlara,  $\beta$ -laktamaz inhibitörlerine dirençli olan TEM varyantlarına, CARB-2 ve PSE-1 gibi karbenisilinazlara, CMY-2 benzeri AmpC  $\beta$ -laktamazlara ve geniş spektrumlu sefalosporinler, penisilinler ve monobaktamları hidrolize etme yeteneğine sahip CTX-M tipi genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamazlara (GSBL) sahip izolatlar bildirilmiştir (8,45). Epidemiyolojik çalışmalar, GSBL üreten *P. mirabilis* izolatlarında belirgin bir artış olduğunu göstermekle birlikte KPC-2, VIM-1, IMP, NDM-1 ve OXA-48 gibi karbapenemazların hala düşük düzeyde olduğu raporlanmaktadır. *P. mirabilis*'te karbapenemazların erken tespiti için kullanılan dipikolinik asit, EDTA, boronik asit ve

temosilin içeren disklerle gerçekleştirilen disk difüzyon sinerji testlerinin yorumlanması, sahip olduğu “swarming” hareketinden dolayı oldukça zorlaşmaktadır. Ayrıca penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) meydana gelen değişim, porin kaybı ya da karbapenemaz genleri de dahil olmak üzere çeşitli direnç genlerinin edinilmesi sonucu imipeneme azalmış duyarlılık gözlemlendiğinden karbapenemaz taramasında ertapenem veya meropenem kullanılması gerektiği unutulmamalıdır (8,48).

### **2.6.2. Aminoglikozid Direnci**

*Proteus mirabilis*'in, taşıyıcı genleri plazmid, integron veya transpozonlar üzerinde bulunabilen, aminoglikozid modifiye edici enzimler adı verilen *aadA1* ve *aadA2* adeniltransferaz, *aadB* aminoglikozid transferaz, *aacA4* asetiltransferaz ve fosfotransferaz gibi enzimlerin yardımıyla aminoglikozidlerin yapısını bozarak etkisiz hale getirebildiği, plazmid aracılı 16S ribozomal RNA (rRNA) metilazları (RmtA, RmtB, RmtC ve ArmA gibi) ile rRNA'nın belirli bölgelerini metilleyerek aminoglikozid bağlanmasını ve dışa atım pompaları ile aminoglikozidlerin hücre içine girişini engelleyebildiği bilinmektedir (45).

### **2.6.3. Florokinolon Direnci**

Kinolonların hedefi olan topoizomeraz IV (*parC* ve *parE*) ve DNA giraz (*gyrA* ve *gyrB*) enzimlerinde meydana gelen modifikasyonlar, kinolon direnç belirleyici gen bölgelerinde meydana gelen mutasyonlar ve *AcrAB* dışa atım pompalarının aşırı ekspresyonu, bakterinin kinolon antibiyotiklerine karşı direnç geliştirmesine ve bu antibiyotiklerin etkisiz hale gelmesine neden olmaktadır (45).

## **2.7. BİYOFİLM**

Mikroorganizmaların canlı ya da cansız yüzeylere yapışma sonrası, konak bileşenlerinden ve mikrobiyal nükleik asit, protein, polisakkarit ve lipitlerden oluşan EPS ile kendilerini çevreleyerek oluşturduğu kompleks, yapılandırılmış ve toplu yaşam biçimlerine biyofilm adı verilmektedir. Biyofilmler sadece katı yüzeylerde değil, sıvı yüzeylerde hava ile temas eden bölgelerde (hava-sıvı arayüzeylerinde) de bir tabaka

halinde görülebilmektedir (49). Yapılan çalışmalarda fosil kalıntılarında biyofilm oluşumuna rastlanması, biyofilmin prokaryotların ilkel dünyanın zorlu koşullarına (aşırı sıcaklık, pH ve ultraviyole ışığı) adaptasyonu için gerekli bir yapı olduğunu kanıtlamaktadır (2). Biyofilm oluşumu sayesinde mikrobiyal hücreler, yüzeyler üzerinde bir araya toplanarak multisellüler bir yapı oluşturmakta ve bu sayede hücreler arası yakınlık sağlanarak iletişim ve genetik materyal aktarımı kolaylaşmaktadır. Bu sayede antibiyotik, dezenfektan ve konak bağışıklık sistemi etkilerine karşı korunmakta ve hayatta kalma, yayılma yeteneklerini artırarak kronik enfeksiyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır (2).

### **2.7.1. Tarihçe**

Deniz mikrobiyolojisi alanında öncü bir bilim insanı olan Claude Zobell, 1943 yılında deniz suyunda ve tabanında bulunan mikroorganizmaların ekolojisini ve biyokimyasal aktivitelerini izlemiş ve doğada planktonik (serbest yüzen) ve sesil (yüzeye yapışık) olmak üzere iki farklı yaşam formu olduğunu gözlemlemiştir. Mikroorganizmaların yüzeylerdeki eğilimlerini araştırdığında ise cam ve metal gibi inorganik yüzeylerde bir araya gelerek kompleks tabakalar oluşturduklarını raporlamıştır. Bu çalışma, biyofilm oluşumunun temel mekanizmalarını anlamak için önemli bir adım olmuştur (50). Costerton ve arkadaşları 1981 yılında kistik fibrozis hastalarının postmortem akciğer örneklerinde *Pseudomonas aeruginosa* mikrokolonilerini elektron mikroskopu ile gözlemleyerek “glikokaliks” tabakası üzerinde önemli gözlemler yapmış, sonrasında biyofilm yapısını tanımlayarak biyofilm oluşturan bakterilerin, planktonik bakterilere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal dirence sahip olduğunu göstermiştir. Costerton'un bu öncü çalışması, biyofilm araştırmalarının temelini oluşturarak, sağlık, endüstri ve çevre mikrobiyolojisi alanlarında biyofilmlerle mücadele stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunmuştur (51).

### **2.7.2. Biyofilm Yapısı ve Oluşum Aşamaları**

Biyofilm oluşumu, serbest halde yüzen planktonik bakterinin uygun bir yüzey ile karşılaştığında, sahip olduğu pili ve fiziksel kuvvetler yardımıyla yüzeye yapışması ile

başlar. Bu aşamada, bakteriler yüzeye zayıf kuvvetlerle ve kolayca geri ayrılabilir olarak bağlanmaktadır. Yüzeyin sahip olduğu malzeme bileşimi, bakterinin hücre duvarı yapısı, hidrofobik, elektrostatik ve sterik kuvvetler, Van der Waals bağları, ortam sıcaklığı ve basıncı yapışmayı etkileyen önemli faktörlerdendir. Özellikle polistiren kateterler, protez cihazlar, stentler ve renal taşlar gibi hidrofobik ve pürüzlü yüzeyler mikroorganizmanın kolonize olması için ideal özellikleri taşımaktadır. Kolonizasyon sonrası, bakteriyel adezinlerin etkisiyle yüzeye sıkı bir şekilde ve geri dönüşümsüz olarak yapışma sağlanmaktadır (52).

Geri dönüşümsüz yapışma sonrası, hücreler arası etkileşim sistemleri aktive edilerek spesifik kimyasal sinyaller üretilmekte, biyofilm ile ilişkili genlerin ekspresyonu artırılmakta ve EPS üretimi başlatılmaktadır. Biyofilm yapısında mikroorganizmaların toplam kütleinin sadece %10'unu oluşturduğu, EPS'nin ise kütleinin %90'ından fazlasını oluşturabildiği bilinmektedir. EPS genellikle bakterinin kendi ürettiği proteinler, lipidler, polisakkaritler, ekstraselüler DNA ve enzimlerden oluşmakta ve her bakteri için bu bileşenlerin oranı değişmektedir. Bu yapı sayesinde bakterilerin biyofilm içinde yakın uzaklıkta bir arada kalması sağlanarak hücreler arası iletişim ve genetik materyal aktarımı kolaylaşmakta, mekanik olarak stabil olan üç boyutlu bir yapı oluşturulmakta, antibiyotik ve konak bağışıklık sistemi gibi dış etkenlere karşı koruma sağlanmakta ve ortamdaki su ve besin molekülleri tutularak nemli ve hayatta kalma için uygun bir ortam oluşturulmaktadır (53).

Sonraki aşama, hücre bölünmesi ve çoğalma sonucunda tek veya birden fazla bakteri türünü içerebilen mikrokolonilerin oluşmasıdır. Oluşan bu mikrokoloniler, simbiyotik ilişki kurulmasına olanak tanıyarak karmaşık organik bileşiklerin parçalanması için işbirliği yapılmasını, besin kaynaklarının verimli olarak kullanılmasını ve enerji üretimini sağlamaktadır. Bakterilerin sürekli olarak büyümesi ve çoğalması sonucu oluşan yeni hücreler yüzeye tutunmaya devam etmekte ve biyofilm yapısı üç boyutlu düzlemde mantar şeklini alarak yukarı doğru genişlemektedir. Bu olgunlaşma sürecinde içteki hücrelerin uzun süre varlıklarını sürdürebildiği korunaklı bir yapı oluşturulmakta, bu da biyofilmin tedavi edilmesini zorlaştırmakta ve enfeksiyonların kronik hale gelmesine neden olabilmektedir (54).

Biyofilm oluşumunun son aşamasında, üst katmanda bulunan bakterilerin bir kısmı biyofilmi stabilize eden polisakkaritleri parçalayan enzimler üreterek serbestleşmekte ve flagella proteini ile ilgili genlerin ekspresyonunu arttırarak hareket kabiliyetini arttırmakta, böylece sesil formdan hareketli forma geri dönmektedir. Bu bakteriler, yeni bir yüzeye yapışarak ikincil bir biyofilm tabakası oluşturmakta veya ortamda serbest yüzen forma dönüşebilmektedir (54,55). Bu süreç sayesinde enfeksiyonun yayılması ve yeni yüzeylerin kolonizasyonu sağlanmakta, metastatik yayılım, emboli ve kronik enfeksiyonlar gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır (52). Yapılan çalışmalar sonucu tüm mikrobiyal (invaziv cihaz ilişkili ve ilişkisiz) ve kronik enfeksiyonların sırasıyla 65% ve 80%'inin biyofilm oluşumu ile bağlantılı olduğu raporlanmaktadır (56).

### **2.7.3. *Proteus mirabilis*'te Biyofilm Oluşumu**

*Proteus mirabilis*'in biyofilm oluşturma kapasitesi, sahip olduğu “swarming” hareketi, fimbriyalar, üreaz enzimi, kapsül polisakkaritleri ve dışa atım pompası gibi yapılar ile ilişkilendirilmiştir. “Swarming” hareketi, özellikle kateter ile ilişkili üriner sistem enfeksiyonlarının gelişiminde bakterinin periüretal bölgeden kateter yüzeyi boyunca ilerleyerek mesaneye ulaşmasını sağlamaktadır. Ancak, biyofilm oluşumun başlatılabilmesi için “swarming” hareketinin baskılanması ve bakterinin fimbriyalar aracılığıyla doğrudan kateter yüzeylerindeki pürüzlü yüzeylere yada kateter üzerindeki vücut sıvılarından oluşan protein tabakasına yapışması gerekmektedir (3,57). Üreaz enzimi sayesinde oluşan alkali pH ve üreolitik biyomineralizasyon sonucu kristal oluşumu ile desteklenen biyofilm tabakasının varlığı, kateter tıkanıklığını ve kateter yüzeylerine yapışmayı kolaylaştırmakta ve gümüş gibi antimikrobiyal ajanlarla kaplanmış kateterlerin bile bu süreçten etkilenebilmesine yol açmaktadır (57). Ayrıca, ortam pH'sının yükselmesi, *Proteus* toksin aglütinin, siderofor ve sitotoksin aktivitesi ve fimbriyaların reseptör ile etkileşimi için optimum pH düzeyinin sağlanmasına yardımcı olup yüzeylerde kalıcı biyofilm tabakasının oluşmasına ve enfeksiyonun yayılmasına katkıda bulunmaktadır (41). Üreaz aktivitesinin yanı sıra, *P. mirabilis* kapsüller polisakkaritlerinin asidik yapısı nedeniyle idrardaki  $Mg^{+2}$  iyonlarını zayıf bir şekilde bağladığı ve bu

iyonların idrardaki konsantrasyonunu arttırarak strüvit oluşumunu teşvik ettiği bilinmektedir. Dışa atım sistemleri ise, kısa peptitlerin hücre dışına taşınımını sağlayarak biyofilm yapısındaki EPS oluşumuna katkıda bulunmaktadır (3).

Son yıllarda, üriner sistem enfeksiyonlarının yanı sıra, yara yeri enfeksiyonlarında da biyofilm oluşumunun rolü ve önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Yara dokusu içerisindeki nekrotik doku ve hücre kalıntıları, biyofilm oluşumu için ideal bir mikroçevre sağlayarak bakterilerin yüzeye tutunmasını ve enfeksiyonun kalıcı hale gelmesini kolaylaştırmaktadır. Özellikle kronik yaraların %60'ında biyofilm oluşumunun tespit edildiği ve bu durumun yara iyileşmesini geciktirdiği, enfeksiyonların kronikleşmesine neden olduğu ve sağlık sistemine olan maliyeti önemli ölçüde arttırdığı bilinmektedir (58). *P. mirabilis*, özellikle venöz ülser enfeksiyonlarında biyofilm yapısında yüksek oranda izole edilen bir bakteri türü olmasına ve diyabetik ayak yarası enfeksiyonlarının yaklaşık %4'üne, yara yeri enfeksiyonlarının ise %9-13'üne neden olmasına rağmen, bu patojenin kronik yara enfeksiyonlarındaki biyofilm oluşturma kapasitesi ve konak-patojen etkileşimleri hakkında literatürdeki bilgilerin oldukça sınırlı olması dikkat çekmektedir (59,60).

#### **2.7.4. Biyofilm Direnç İlişkisi**

Biyofilmler, antimikrobiyal ajanlara karşı oluşan direnç ile ilişkilendirilmekte ve biyofilm yapısı içinde bu direnci sağlayan çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda oral olarak alınan  $\beta$ -laktamlar, kinolonlar, aminoglikozidler ve makrolidlerin biyofilmler üzerinde etkisiz olduğu raporlanmaktadır. Biyofilm ekstrasellüler matriksinde bulunan polisakkarit, protein ve DNA benzeri yapılar, antimikrobialerin hücrelere difüzyonunu fiziksel olarak sınırlamaktadır (52). Mekanik korumanın yanı sıra, biyofilm içindeki besin ve oksijen dağılımında oluşan farklılıklar sonucu bazı bakterilerin metabolik olarak aktif olduğu, bazılarının ise durağan faza geçtiği gözlemlenmiştir. Bu heterojen yapı sayesinde metabolik olarak aktif bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı daha duyarlı olduğu raporlanırken, durağan fazdaki bakterilerin biyofilm tabakası içinde kalıcı hücrelere dönüşerek ajanların etkilerine karşı korunduğu bilinmektedir (61). Ayrıca biyofilm tabakası içindeki bakteriler, hücre yoğunluğu arttığı zaman "quorum sensing"

adı verilen bir sürece girerek otoindükleyici adı verilen sinyal moleküllerini salgılamakta, gen ekspresyonlarını değiştirmekte, toplu ve koordineli davranışlar oluşturarak yıkıcı enzimlerin sentezini kontrol etmekte ve antimikrobiyal ajanlar gibi çevresel streslere olan cevabı düzenleyebilmektedir (62).

### 2.7.5. Biyofilm Önleme Çalışmaları

Biyofilm oluşumunun özellikle *P. mirabilis* için daha yüksek bir antimikrobiyal direnç ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve bu nedenle biyofilm ile mücadele için antimikrobiyal ajanların etkinliğini artırmaya yönelik birçok girişim yapılmıştır (3). Biyofilm önlemeye yönelik geliştirilen yeni stratejiler arasında, çeşitli doğal veya sentetik ajanlar, faj terapisi, yüzey kaplamaları ve biyofilm matrisini hedef alan enzimler yer almaktadır. Deoksiribonükleaz ve proteinaz K gibi enzimlerin biyofilm yapısını parçalayabildiği, benzimidazolün EPS üretimini engelleyebildiği,  $Ca^{+2}$  ve  $Mg^{+2}$  içeren şelatörlerin mikroorganizmaların yüzeylere yapışmasını engellediği, gümüş ve kuersetin nanoparçacıkları, furanon, trimetilsilan, selenosiyanat diasetik asit ve trimetoksisilil propildimetiloktadeasil amonyum klorür gibi yüzey kaplamalarında kullanılan bileşiklerin antibiyofilm özellik gösterdiği bilinmektedir (52). “Quorum sensing” inhibitörleri ve monoklonal antikolarla yapılan çalışmaların da olumlu sonuçlar verdiği raporlanmıştır (52). Son zamanlarda, bitkisel olarak elde edilen ve geniş biyolojik etkinlik gösteren fitokimyasalların antibiyofilm etkisi büyük ilgi görmektedir. Örneğin, turna yemişinden (*Vaccinum macrocarpon*) elde edilen A2 tipi proantosiyanidinlerin bakterilerin epitel hücrelerine tutunmasını engellediği raporlanmaktadır. Ayrıca, kurkumin EPS üretimini inhibe etmekte ve soğan yağından elde edilen N-asetilsistein ve dipropil disülfit, yüzeylere tutunmayı, üreaz enzimini ve motiliteyi inhibe etmektedir. *Hyptis suaveolnes*, *Euphorbia trigona*, *Capparis spinosa*, *Ibicella lutea* gibi yerli bitkilerin özlerinin de çeşitli mekanizmalarla *P. mirabilis*'e ait biyofilm tabakasını inhibe edebildiği raporlanmıştır (3). Fitokimyasallar dışında, farklı botanik kökenlerinden gelen birkaç bal türünün (Manuka balı, Mısır yonca balı) ve propolis etanol ekstraktının *P. mirabilis*'te biyofilm oluşumunu anlamlı bir şekilde inhibe ettiği bulunmuştur (59,60)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Tıpta Uzmanlık Projesi – Proje No: 2024/057). Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu’ndan 26.09.2023 tarihinde etik kurul onayı alınmıştır.

#### 3.1. İZOLATLARIN ELDE EDİLMESİ

Çalışmamıza Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda Ocak 2021- Mart 2023 tarihleri arasında idrar ve yara örneklerinden izole edilen ve stok kültür koleksiyonunda yer alan 76 adet *P. mirabilis* izolatı dahil edilmiştir. Tekrarlayan üremeleri olan hastalarda ilk saptanan izolat dikkate alınmış ve her hastadan tek bir izolat çalışmaya dahil edilmiştir.

#### 3.2. İZOLATLARIN TANIMLANMASI

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2021- Mart 2023 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örnekler %5 koyun kanlı agar (KKA) (RTA, Türkiye) ve EMB (Eosin Methylene Blue) (RTA, Türkiye) besiyerlerine ekilerek 37°C’de aerobik koşullarda en az 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında üreme gözlenen plakların koloni morfolojileri incelenerek pigmentasyon, koku ve kıvam gibi özellikler değerlendirilmiştir. KKA besiyerinde karakteristik “Bulls’eye” görünümünde “swarming” (yayılma) hareketi oluşturan ve keskin kokulu koloniler, EMB agar besiyerinde ise renksiz veya açık renkli koloniler *P. mirabilis* lehine düşünülmüştür. Mikroskopik analiz için Gram boyama yöntemi kullanılmış ve Gram-negatif basil morfolojisi gösteren bakterilerin tür düzeyinde tanımlanması protein yapılarının kütle ve yük özelliklerine dayalı kütle spektral profillerini analiz eden MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.3. İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ**

İzolatların antibiyotik duyarlılık testleri, minimum inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) belirlemeye yönelik tam otomatik bir sistem olan VITEK®2 Compact (bioMérieux, Fransa) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen MİK değerleri Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) yönergelerine göre incelenmiştir (63)

### **3.4. İZOLATLARIN SAKLANMASI**

İdrar ve yara örneklerinden izole edilen ve *P. mirabilis* olarak tanımlanan izolatlar %10'luk gliserollü beyin kalp infüzyon sıvı besiyerinde (Oxoid, Birleşik Krallık) -80°C'de dondurularak muhafaza edilmiş ve çalışmanın ileri basamakları için saklanmıştır.

### **3.5. İZOLATLARIN CANLANDIRILMASI**

Stok haldeki izolatlar, çalışmanın diğer basamaklarında kullanılmak üzere triptik soya agar (TSA) (Oxoid, Birleşik Krallık) besiyerine pasajlanarak canlandırılmıştır.

### **3.6. İZOLATLARDA BİYOFİLM OLUŞUMUNUN TESPİTİ**

*Proteus mirabilis* izolatlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri Merritt ve arkadaşları tarafından belirtilen kristal viyole mikrotitre plak yöntemi kullanılarak ölçülmüştür (64). Öncelikle tüm izolatlar, 3 ml beyin kalp infüzyon sıvı besiyerinde, 37°C'de 18 saat boyunca inkübasyona bırakılmış ve durağan faza ulaşılması sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası izolatlar %1 glikoz içeren triptik soya buyyon (TSB) (Oxoid, Birleşik Krallık) besiyeri içinde 1/100 oranında seyreltilmiş ve her bir seyreltilmiş kültürden 200 µl alınarak 96 kuyucuklu düz tabanlı steril mikropklara her bir izolat için 4 ayrı kuyucuk ayrılacak şekilde inoküle edilmiştir. Pozitif kontrol olarak biyofilm oluşturduğu bilinen kalite kontrol suşu *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 kullanılmış, negatif kontrol olarak inokülüm eklenmemiş steril %1 glikoz içeren TSB besiyerinden 200 µl 4 ayrı kuyucuğa eklenmiştir. İnokülasyon sonrası mikropkların kapağı kapatılmış ve nem kaybını en aza indirmek için parafin ile kaplanmıştır. Sonrasında tüm mikropklar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından mikropklar ters

çevrilerek içeriği boşaltılmış ve her bir kuyucuk 200 µl phosphate-buffered saline (fosfat tamponlu salin, PBS) ile 3 kez yıkanarak adezyon göstermeyen planktonik bakterilerin ortamdaki uzaklaştırılması sağlanmıştır. Yıkama sonrası mikropalaklar ters çevrilerek 22°C’de oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan mikropalakların her bir kuyucuğuna %0,1 konsantrasyonda 200 µl kristal viyole (RTA, Türkiye) eklenerek 45 dakika boyunca 22°C’de inkübe edilmiş ve yapışkan biyofilm tabakalarının boyanması sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası mikropalaklar tekrar ters çevrilerek içeriği boşaltılmış ve kalan boyanın ortamdaki uzaklaştırılması için her bir kuyucuk 200 µl distile su ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkama sonrası mikropalaklar tekrar ters çevrilmiş ve 22°C’de oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Sonrasında her bir kuyucuğa 200 µl %95 etanol (Merck, Almanya) eklenerek boyanın çözdürülmesi sağlanmış ve mikropalaklar 630 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında (BioTek ELX800 Mikropalak Okuyucu, ABD) okutularak her bir kuyucuk için ayrı ayrı optik dansite (OD) değerleri hesaplanmıştır. Spektrofotometre sonuçlarına göre her bir izolat için ayrılmış 4 ayrı kuyucuğun OD değerlerinin ortalaması alınmış ( $OD_{izolat}$ ) ve negatif kontrol olarak kullanılan besiyerlerini içeren kuyucukların OD değerlerinin ortalamasına ( $OD_{nk}$ ) 3 standart sapma (3SD) değeri eklenerek OD eşik değeri ( $OD_{cut-off}$ ) belirlenmiştir. İzolatların ortalama OD değerleri ve  $OD_{cut-off}$  değerleri hesaplandıktan sonra biyofilm oluşturma kapasitelerinin karşılaştırılması için Tablo 2’de belirtilen hesaplama kullanılmıştır (65).

**Tablo 2:** Biyofilm Oluşturma Kapasitelerinin Sınıflandırılması

Ortalama OD Değerleri	Biyofilm Oluşturma Kapasitesi
$OD_{izolat} \leq OD_{cut-off}^*$	Biyofilm Üretmiyor
$OD_{cut-off} < OD_{izolat} \leq 2OD_{cut-off}$	Zayıf
$2 OD_{cut-off} < OD_{izolat} \leq 4OD_{cut-off}$	Orta
$4OD_{cut-off} < OD_{izolat}$	Güçlü

\*  $OD_{cut-off} = OD_{nk} + 3SD$  (Optik dansite eşik (cut off) değeri, negatif kontrolün ortalama OD değeri + (3x negatif kontrolün standart sapması))

## 3.7. İZOLATLARDA VİRÜLANS İLE İLİŞKİLİ GENLERİN TESPİTİ

### 3.7.1. DNA İzolasyonu

İzolatların polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) için kullanılacak kalıp DNA'larının izolasyonu, DNA4PCR (RTechMed, Türkiye) kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle DNA izolasyonu yapılacak izolatlar TSA besiyerinde 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, üreyen saf kültürlerden 1 ml'lik steril distile su içerisinde bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar 12.000 g'de 3 dakika santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmış ve pelet elde edilmiştir. Elde edilen peletin üzerine 100 µl kit solüsyonu eklenerek vortekslenmiş ve ısı bloğunda 56°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası vortekslenen örnekler 100°C'de 8 dakika daha inkübe edilmiş ve son olarak 12.000 g'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen üst faz kalıp DNA olarak kullanılmış ve -20°C derin dondurucuda daha sonra kullanılmak üzere saklanmıştır.

### 3.7.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Bu çalışmada *P. mirabilis* izolatlarında *ureC*, *ireA*, *zapA*, *rsbA*, *flaA*, *atfA*, *pmfA*, *ucaA* ve *hpmA* virülans genlerinin varlığı PCR ile araştırılmıştır. Spesifik gen bölgelerinin çoğaltılması için kullanılan oligonükleotid primer dizilerinin içeriği, reaksiyon sonucu beklenen baz çifti uzunlukları ve hibridizasyon sıcaklıkları Tablo 3'te listelenmiştir.

**Tablo 3:** Çalışmada Kullanılan Primerler

Virülans Geni	Primer dizilimi (5'→3')	Baz çifti uzunluğu (bç)	Hibridizasyon sıcaklığı (°C)	Kaynakça
<i>ureC</i>	F: GTTATTCGTGATGGTATGGG	317	56,2	(66)
	R: GTAAAGGTGGTTACGCCAGA			
<i>ireA</i>	F: ACTACGATAACGAGCGCCAG	681	60	(67)
	R: GCCCTAACTGCGGGAATACG			
<i>zapA</i>	F: ACCGCAGGAAAACATATAGCCC	540	59	(66)
	R: GCGACTATCTTCCGCATAATCA			
<i>rsbA</i>	F: TTGAAGGACGCGATCAGACC	467	58	(66)
	R: ACTCTGCTGTCCTGTGGGTA			
<i>flaA</i>	F: AGGATAAATGGCCACATTG	417	54,2	(68)
	R: CGGCATTGTTAATCGCTTTT			
<i>atfA</i>	F: CATAATTTCTAGACCTGCCCTAGCA	382	50	(67)
	R: CTGCTTGGATCCGTAATTTTAAACG			
<i>pmfA</i>	F: CAAATTAATCTAGAACCACTC	617	54	(67)
	R: ATTATAGAGGATCCCTTGAAGGTA			
<i>ucaA</i>	F: GCTTTTACATCCCAGCGGT	476	60	(67)
	R: GCTGCATTTGCTGGCTCATC			
<i>hpmA</i>	F: TGGTATCGATGTTGGCGTTA	717	55	(69)
	R: GTGGTGCCCACTTTCAGATT			

Bç: Baz çifti

Primerler, liyofilize olarak temin edilmiş ve 300 µl nükleaz içermeyen su içerisinde çözdürülerek 100 mM'lık stok çözelti elde edilmiştir. Her bir örnek için spesifik gen bölgelerine bağlanan primer çiftleri, d (Genaxxon, Almanya), dNTP karışımı (Genaxxon, Almanya) ve Taq polimeraz (Genaxxon, Almanya), Tablo 4'te belirtilen reaksiyon konsantrasyonlarına uygun olacak miktarda mikrosantrifüj tüpü içerisine eklenerek 48 µl karışım hazırlanmış ve izole edilmiş DNA'lardan 2 µl eklenerek, her bir örnek için toplam hacmin 50 µl'ye tamamlanması sağlanmıştır.

**Tablo 4:** PCR Bileşenleri

Bileşen	Reaksiyon Konsantrasyonu
PCR Tamponu (10 X)	1 X
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2,5 mM
dNTP (10 mM)	0,2 mM
Primer-F (100 mM)	0,5 mM
Primer-R (100 mM)	0,5 mM
Taq polimeraz (5U/μl)	1,5 U

Amplifikasyon protokolü, 95°C’de 5 dakika başlangıç denatürasyonu sonrası 36 döngü oluşacak şekilde programlanmıştır. Her bir döngüde 95°C’de 30 saniye denatürasyon, *ureC* geni için 56,2°C’de 30 saniye, *ireA* ve *ucaA* genleri için 60°C’de 30 saniye, *zapA* geni için 59°C’de 30 saniye, *rsbA* geni için 58°C’de 30 saniye, *flaA* geni için 54,2°C’de 30 saniye, *atfA* geni için 50°C’de 30 saniye, *pmfA* geni için 54°C’de 30 saniye ve *hpmA* geni için 55°C’de 30 saniye primer bağlanması ve 72°C’de 60 saniye uzama aşamaları yer almaktadır. Reaksiyonlar 72°C’de 8 dakika son uzama basamağı sonrası tamamlanmıştır.

### 3.7.3. Agaroz Jel Elektroforez Analizi

Amplikonların görüntülenmesi için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Öncelikle 100 ml 0,5X TBE (Tris Borate EDTA) (Wisent Inc., Kanada) tamponu içerisine 1 gr agaroz (Bio Basic Inc., Kanada) eklenerek %1’lik agaroz jel hazırlanmış ve mikrodalga fırın içerisinde bütün bileşenler tamamen eriyene kadar ısıtılmıştır. Sonrasında agaroz jelin 50-60°C’ye kadar soğuması beklenmiş ve 5 μl jel boyası (Clearband Safe DNA Gel Stain Solution, Ecotech, Türkiye) eklenip iyice karıştırılmıştır. Karışım, tarakların önceden yerleştirilmiş olduğu düz bir zemin üzerindeki elektroforez jel tepsisine, hava kabarcığı oluşumunu engellemek için nazikçe dökülmüş ve 22°C oda sıcaklığında jelin tamamen katılaşması beklenmiştir. Tamamen katılaştıran jel, taraklardan ayrılarak elektroforez tankına yerleştirilmiş ve jelin yüzeyini kaplayacak şekilde 0.5X

TBE tamponu eklenmiştir. Jelde her sıranın birinci kuyucuğuna 5 µl moleküler ağırlık standardı (Gen Ladder, Genaxxon, Almanya) yüklenmiş, kalan kuyucuklara ise 8 µl amplikon ve 2 µl 6X Clearband DNA Loading Dye (Ecotech, Türkiye) yükleme tamponundan oluşan 10 µl'lik karışım yüklenmiştir. Örnekler 100V/mA elektrik akımında 60 dakika yürütülmüştür. Elektroforez sonrası Gel Doc EZ Imager görüntüleme sistemi (Bio-Rad, ABD) kullanılarak ultraviyole ışık altında analiz gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Tablo 3'de belirtilen baz çifti uzunlukları dikkate alınarak değerlendirilmiş ve beklenen uzunlukta bant oluşturan izolatlar pozitif kabul edilmiştir. PCR sonrası elde edilen amplikonların sekansı ticari firma (Sentebiolab, Ankara) aracılığıyla ABI Prism 3130 Genetik Analizör sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sekans sonuçları FinchTV (versiyon 1.4.0) programı ile değerlendirilmiş ve NCBI (National Center for Biotechnology Information) Nucleotide BlastN aracılığıyla NCBI veri sisteminde sonuçlar analiz edilmiştir.

### **3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Verilerin analizinde SPSS versiyon 25 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değer ve yüzde (%) şeklinde hesaplanmıştır. Bağımsız değişkenlere göre kategorik verilerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-kare testi kullanılmıştır. Ki-kare tablosundaki hücrelerin herhangi birinde beklenen gözlem sayısı 5'in altında olduğunda Fisher's exact ki-kare testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. HASTALARA VE İZOLATLARA AİT ÖZELLİKLER

Bu çalışmaya, idrar yolu ve yara yeri enfeksiyonu olan iki hasta grubundan izole edilen toplam 76 adet *P. mirabilis* izolatı dahil edilmiştir. Bu izolatların 41 (%53,9)'i İYE olan hastaların idrar kültürlerinden, 35 (%46,1)'i ise yara yeri enfeksiyonu olan hastaların yara kültürlerinden elde edilmiştir. Hastaların genel özelliklerine bakıldığında 37 (%48) kişinin erkek, 39 (%52) kişinin ise kadın cinsiyette olduğu, yaş aralıklarının 1-92 arasında değiştiği, 58 (%76,3) hastanın 16 yaş ve üzerinde olduğu belirlenmiştir. İdrar yolu enfeksiyonu olan hastaların 27 (%65,8)'sinin kadın ve 14 (%34,14)'ünün erkek cinsiyette olduğu, yara yeri enfeksiyonu olan hastaların ise 23 (%65,71)'ünün erkek ve 12 (%34,2)'sinin kadın olduğu belirlenmiştir. Hastaların genel özelliklerine ait veriler Tablo 5'te gösterilmiştir.

**Tablo 5:** Hastaların Genel Özellikleri

Genel özellikler	Sayı	Yüzde (%)
İdrar yolu enfeksiyonu	41	53,9
Yara yeri enfeksiyonu	35	46,1
Kadın cinsiyet	39	52
Erkek cinsiyet	37	48
15 yaş ve altı	18	23,7
16 yaş ve üzeri	58	76,3

### 4.2. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTİ SONUÇLARI

Çalışmamızda kullanılan *P. mirabilis* izolatlarının VITEK®2 Compact (bioMérieux, Fransa) cihazı kullanılarak gerçekleştirilen antibiyotik duyarlılık testi sonuçları incelendiğinde, idrar kültürlerinden elde edilen izolatlarda ampisilin için 27 (%65,9) izolatın duyarlı ve 14 (%34,1) izolatın dirençli olduğu, amoksisilin-klavulanat için 35 (%85,4) izolatın duyarlı ve 6 (%14,6) izolatın dirençli olduğu, piperasilin-

tazobaktam için 41 (%100) izolatın duyarlı olduğu, sefuroksim için 1 (%2,4) izolatın duyarlı, 36 (%87,8) izolatın artmış dozda duyarlı ve 4 (%9,8) izolatın dirençli olduğu, seftazidim için 39 (%95,1) izolatın duyarlı, 1 (%2,4) izolatın artmış dozda duyarlı ve 1 (%2,4) izolatın dirençli olduğu, seftriakson için 39 (%95,1) izolatın duyarlı ve 2 (%4,9) izolatın dirençli olduğu, sefepim için 38 (%92,7) izolatın duyarlı, 2 (%4,9) izolatın artmış dozda duyarlı ve 1 (%2,4) izolatın dirençli olduğu, ertapenem için 41 (%100) izolatın duyarlı olduğu, meropenem için 41 (%100) izolatın duyarlı olduğu, amikasin için 40 (%97,6) izolatın duyarlı ve 1 (%2,4) izolatın artmış dozda duyarlı olduğu, siprofloksasin için 32 (%78) izolatın duyarlı ve 9 (%22) izolatın dirençli olduğu, trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SXT) için 23 (%56,1) izolatın duyarlı ve 18 (43,9) izolatın dirençli olduğu raporlanmıştır. Yara kültürlerinden elde edilen izolatlarda ise ampisilin için 13 (%37,1) izolatın duyarlı ve 22 (%62,9) izolatın dirençli olduğu, amoksisilin-klavulanat için 23 (%65,7) izolatın duyarlı ve 12 (%34,3) izolatın dirençli olduğu, piperasilin-tazobaktam için 34 (%97,1) izolatın duyarlı ve 1 (%2,9) izolatın dirençli olduğu, sefuroksim için 26 (%74,3) izolatın artmış dozda duyarlı ve 9 (%25,7) izolatın dirençli olduğu, seftazidim için 28 (%80) izolatın duyarlı, 2 (%5,7) izolatın artmış dozda duyarlı ve 5 (%14,3) izolatın dirençli olduğu, seftriakson için 26 (%74,3) izolatın duyarlı ve 9 (%25,7) izolatın dirençli olduğu, sefepim için 27 (%77,1) izolatın duyarlı, 2 (%5,7) izolatın artmış dozda duyarlı ve 6 (%17,1) izolatın dirençli olduğu, ertapenem için 32 (%91,4) izolatın duyarlı ve 3 (%8,6) izolatın dirençli olduğu, meropenem için 34 (%97,1) izolatın duyarlı ve 1 (%2,9) izolatın artmış dozda duyarlı olduğu, amikasin için 32 (%91,4) izolatın duyarlı ve 3 (%8,6) izolatın dirençli olduğu, siprofloksasin için 15 (%42,9) izolatın duyarlı ve 20 (%57,1) izolatın dirençli olduğu, TMP-SXT için 12 (%34,3) izolatın duyarlı ve 23 (%65,7) izolatın dirençli olduğu raporlanmıştır. İdrar ve yara kültürlerinden izole edilen izolatlar arasında ampisilin, amoksisilin-klavulanat, seftriakson, sefepim ve siprofloksasin direnci açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). İstatistiksel analiz için duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar tek grup, dirençli izolatlar ise ayrı bir grup olarak kategorize edilmiştir. İzolatların antibiyotik duyarlılık testi sonuçları Tablo 6'da gösterilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı değerler kalın punto ile belirtilmiştir.

**Tablo 6:** İzolatların Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları

Antibiyotikler	İdrar izolatları (n=41) n (%)			Yara izolatları (n=35) n (%)			p değeri
	S <sup>a</sup>	I <sup>a</sup>	R <sup>a</sup>	S <sup>a</sup>	I <sup>a</sup>	R <sup>a</sup>	
Ampisilin	27 (%65,9)	0	14 (%34,1)	13 (%37,1)	0	22 (%62,9)	<b>0,012<sup>c</sup></b>
Amoksisilin- klavulanat	35 (%85,4)	0	6 (%14,6)	23 (%65,7)	0	12 (%34,3)	<b>0,045<sup>c</sup></b>
Piperasilin- tazobaktam	41 (%100)	0	0	34 (%97,1)	0	1 (%2,9)	0,461 <sup>d</sup>
Sefuroksim	1 (%2,4)	36 (%87,8)	4 (%9,8)	0	26 (%74,3)	9 (%25,7)	0,066 <sup>c</sup>
Seftazidim	39 (%95,1)	1 (%2,4)	1 (%2,4)	28 (%80)	2 (%5,7)	5 (%14,3)	0,089 <sup>d</sup>
Seftriakson	39 (%95,1)	0	2 (%4,9)	26 (%74,3)	0	9 (%25,7)	<b>0,010<sup>c</sup></b>
Sefepim	38 (%92,7)	2 (%4,9)	1 (%2,4)	27 (%77,1)	2 (%5,7)	6 (%17,1)	<b>0,044<sup>d</sup></b>
Ertapenem	41 (%100)	0	0	32 (%91,4)	0	3 (%8,6)	0,093 <sup>d</sup>
Meropenem	41 (%100)	0	0	34 (%97,1)	1 (%2,9)	0	0,093 <sup>d</sup>
Amikasin	40 (%97,6)	1 (%2,4)	0	32 (%91,4)	0	3 (%8,6)	0,093 <sup>d</sup>
Siprofloksasin	32 (%78)	0	9 (%22)	15 (%42,9)	0	20 (%57,1)	<b>0,002<sup>c</sup></b>
TMP-SXT <sup>b</sup>	23 (%56,1)	0	18 (43,9)	12 (%34,3)	0	23 (%65,7)	0,057 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> S=Standart dozda duyarlı, I= Artmış dozda duyarlı, R= Dirençli

<sup>b</sup> TMP-SXT : Trimetoprim-sülfametoksazol

<sup>c</sup> Pearson ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

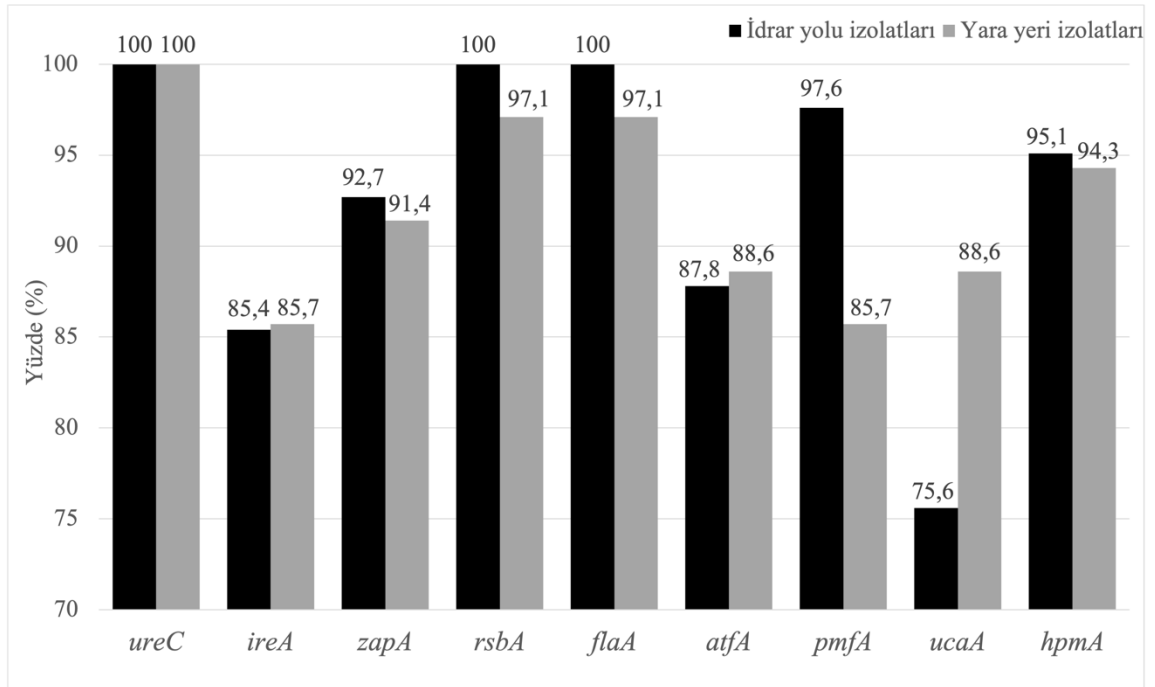
<sup>d</sup> Fisher's exact ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

### 4.3.VİRÜLANS İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI

Çalışmaya dahil edilen 76 adet *P. mirabilis* izolatının virülans ile ilişkili genlerinin varlığı araştırıldığında, idrar izolatlarının tamamında (%100) *ureC*, *flaA* ve *rsbA*, 40 (%97,6)'ında *pmfA*, 39 (%95,1)'unda *hpmA*, 38 (%92,7)'inde *zapA*, 36 (%87,8)'sında *atfA*, 35 (%85,4)'inde *ireA* ve 31 (%75,6)'inde *ucaA* geni saptanmıştır.

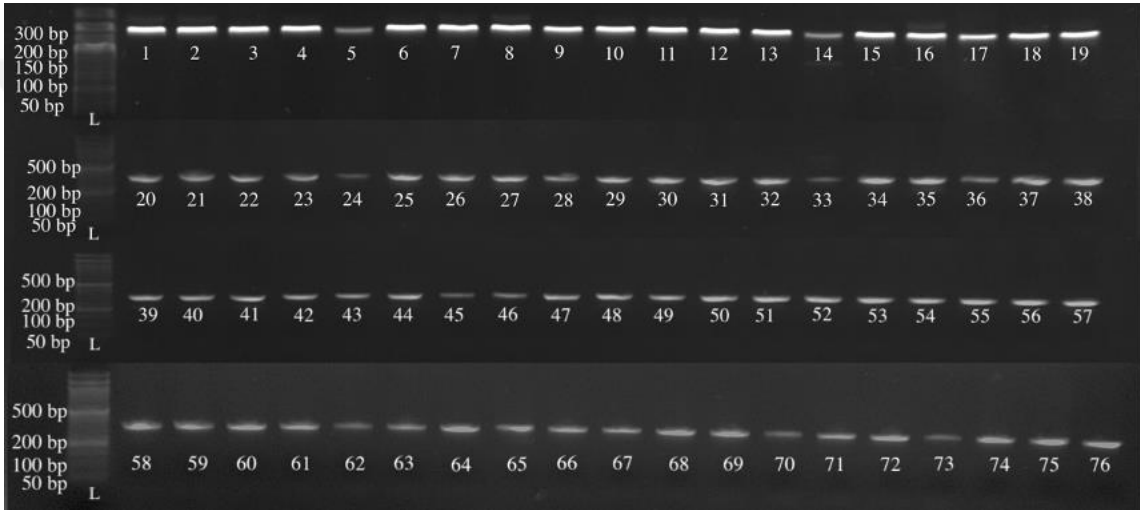
Yara izolatlarının tamamında (%100) *ureC*, 34 (%97,1)'ünde *flaA* ve *rsbA*, 33 (%94,3)'ünde *hpmA*, 32 (%91,4)'sinde *zapA*, 31 (%88,6)'inde *atfA* ve *ucaA*, 30 (%85,7)'unda *ireA* ve *pmfA* geni saptanmıştır. İzolatlarda virülans genlerinin varlığı Şekil 1'de gösterilmiştir. İdrar ve yara izolatları arasında virülans genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

Amplikonların agaroz jel elektroforezi sonrası ultraviyole ışığıyla görüntülenmesi sonucu elde edilen görüntüler *ureC* geni için Şekil 2'de, *ireA* geni için Şekil 3'te, *zapA* geni için Şekil 4'te, *rsbA* geni için Şekil 5'te, *flaA* geni için Şekil 6'da, *atfA* geni için Şekil 7'de, *pmfA* geni için Şekil 8'de, *ucaA* geni için Şekil 9'da ve *hpmA* geni için Şekil 10'da sunulmuştur.



### Şekil 1: İzolatlarda Virülans Genlerinin Varlığı

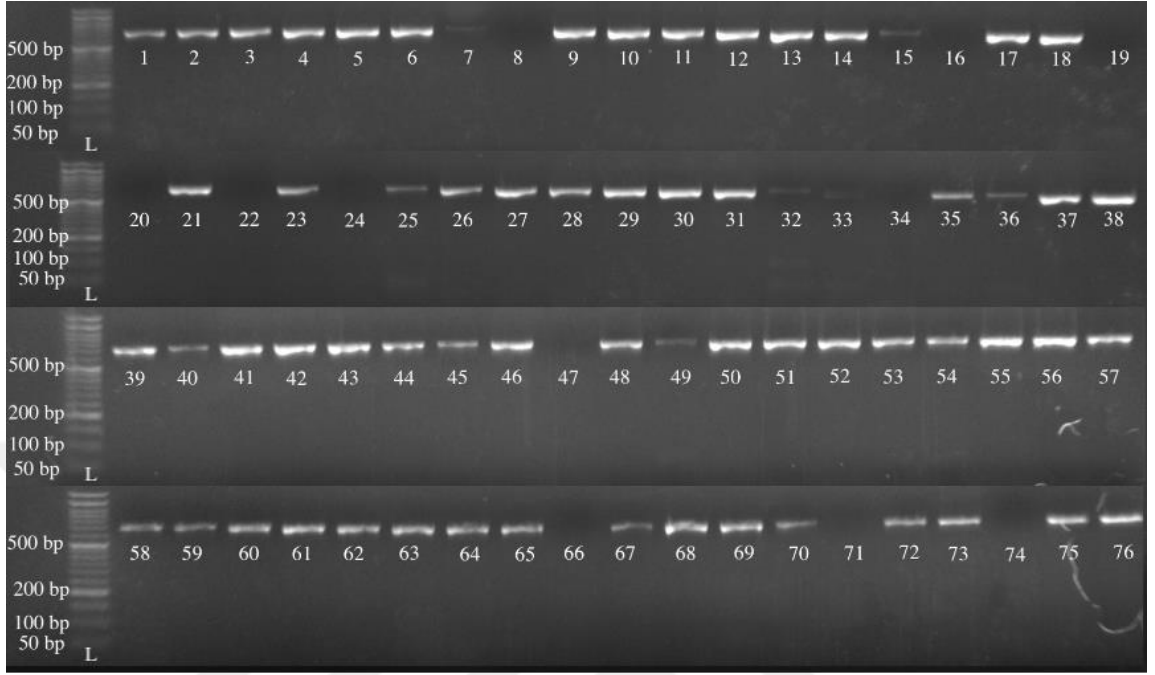
İdrar ve yara izolatları arasında *ureC*, *ireA* ( $p=0,966$ ), *zapA* ( $p=1,0$ ), *rsbA* ( $p=0,461$ ), *flaA* ( $p=0,461$ ), *atfA* ( $p=1,0$ ), *pmfA* ( $p=0,089$ ), *ucaA* ( $p=0,146$ ) ve *hpmA* ( $p=1,0$ ) genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. İzolatlar arasında *zapA*, *rsbA*, *flaA*, *atfA* ve *pmfA* genlerinin istatistiksel analizi için Fisher's exact ki-kare yöntemi, *ureC*, *ireA*, *ucaA* ve *hpmA* için Pearson ki-kare yöntemi kullanılmıştır.



### Şekil 2: *ureC* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 316 bp büyüklüğündedir. Tüm izolatlarda virülans geni pozitifdir.

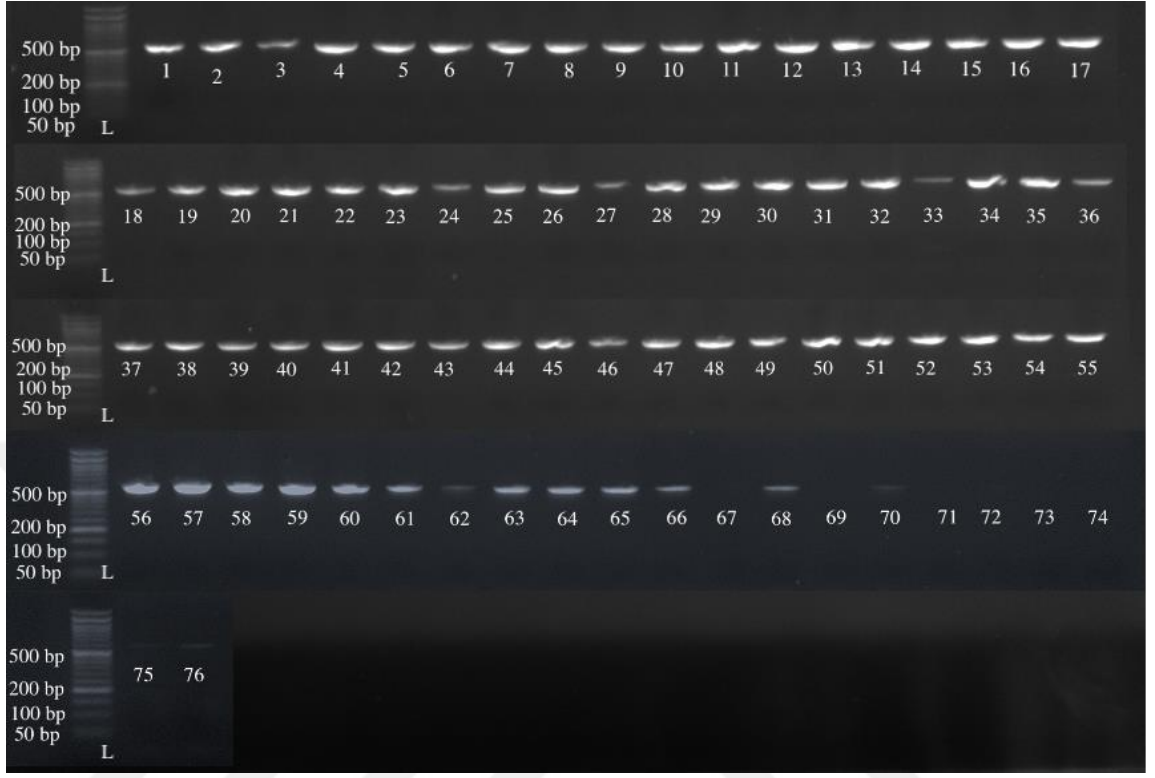
L: Moleküler ağırlık standardı



**Şekil 3:** *ireA* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 681 bç büyüklüğündedir. 8, 16, 19, 20, 22, 24, 34, 47, 66, 71 ve 74 numaralı izolatlarda virülans geni negatif, diğer tüm izolatlarda ise virülans geni pozitiftir.

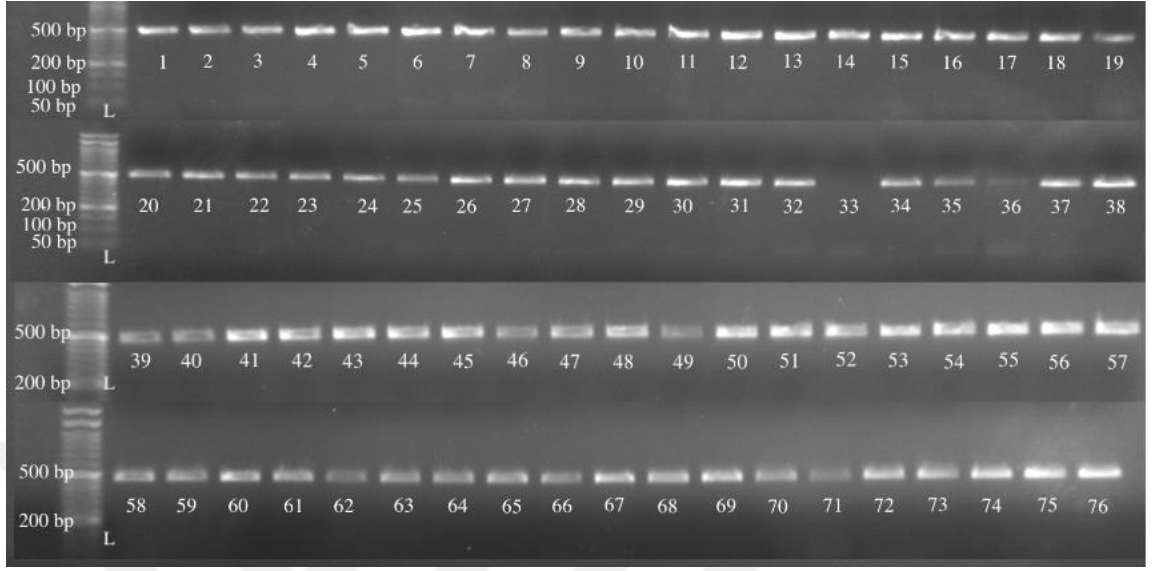
L: Moleküler ağırlık standardı



**Şekil 4:** *zapA* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 540 bp büyüklüğündedir. 67, 69, 71, 72, 73 ve 74 numaralı izolatlarda virülans geni negatif, diğer tüm izolatlarda ise virülans geni pozitifdir.

L: Moleküler ağırlık standardı



**Şekil 5:** *rsbA* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 467 bp büyüklüğündedir. 33 numaralı izolatta virülans geni negatif, kalan tüm izolatlarda virülans geni pozitifdir.

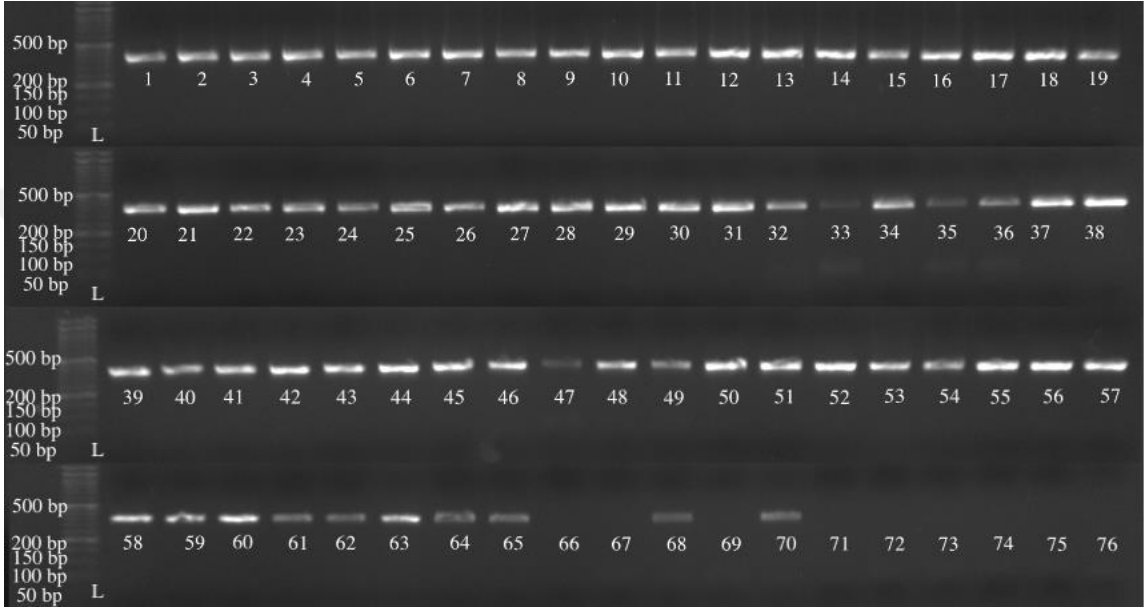
L: Moleküler ağırlık standardı



**Şekil 6:** *flaA* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 417 bç büyüklüğündedir. 70 numaralı izolatta virülans geni negatif, kalan tüm izolatlarda virülans geni pozitifdir.

L: Moleküler ağırlık standardı



**Şekil 7:** *atfA* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 382 bç büyüklüğündedir. 66, 67, 69, 71, 72, 73, 74, 75 ve 76 numaralı izolatlarda virülans geni negatif, kalan tüm izolatlarda virülans geni pozitifdir.

L: Moleküler ağırlık standardı



**Şekil 8:** *pmfA* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 617 bç büyüklüğündedir. 32, 35, 36, 49, 71 ve 72 numaralı izolatlarda virülans geni negatif, kalan tüm izolatlarda virülans geni pozitifdir.

L: Moleküler ağırlık standardı



**Şekil 9:** *ucaA* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 476 bç büyüklüğündedir. 4, 5, 6, 15, 16, 24, 28, 33, 35, 38, 40, 51, 67 ve 72 numaralı izolatta virülans geni negatif, kalan tüm izolatlarda virülans geni pozitifdir.

L: Moleküler ağırlık standardı



**Şekil 10:** *hpmA* Virülans Geninin Tespiti

Amplikonlar 717 bç büyüklüğündedir. 31, 33, 35 ve 36 numaralı izolatlarda virülans geni negatif, kalan tüm izolatlarda virülans geni pozitifdir.

L: Moleküler ağırlık standardı

İzolatların antibiyotik direnç profili ile virülans genlerinin varlığı arasındaki ilişki karşılaştırıldığında, ampisiline duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatların 40 (%100)'ünde *ureC*, *rsbA* ve *flaA*, 34 (%85)'ünde *ireA*, 36 (%90)'sında *zapA*, 35 (%87,5)'inde *atfA* ve *pmfA*, 33 (%82,5)'ünde *ucaA* ve 38 (%95)'inde *hpmA* geni pozitif saptanmıştır. Ampisiline dirençli izolatların ise 36 (%100)'sında *ureC*, 31 (%86,1)'inde *ireA*, 34 (%94,4)'ünde *zapA* ve *hpmA*, 35 (%97,2)'inde *rsbA*, *flaA* ile *pmfA*, 32 (%88,9)'sinde *atfA* ve 29 (%80,6)'unda *ucaA* geni pozitif saptanmıştır. Ampisiline duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar ile ampisiline dirençli izolatlar arasında virülans genlerinin varlığı

açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ).  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonlarına duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatların 58 (%100)'ünde *ureC* ve *flaA*, 49 (%84,5)'unda *ireA*, 53 (%91,4)'ünde *zapA*, 57 (%98,3)'sinde *rsbA*, 51 (%87,9)'inde *atfA*, 52 (%89,7)'sinde *pmfA*, 48 (%82,8)'inde *ucaA* ve 54 (%93,1)'ünde *hpmA* geni pozitif saptanmıştır.  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonlarına dirençli izolatların ise 18 (%100)'ünde *ureC*, *rsbA*, *pmfA* ve *hpmA*, 16 (%88,9)'sında *ireA* ve *atfA*, 17 (%94,4)'sinde *zapA* ve *flaA* ve 14 (%77,8)'ünde *ucaA* geni pozitif saptanmıştır.  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonlarına duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar ile  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonlarına dirençli izolatlar arasında virülans genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Sefalosporin grubu antibiyotiklerin tamamı göz önünde bulundurularak yapılan değerlendirmede, sefalosporinlere duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatların 61 (%100)'ünde *ureC* ve *rsbA*, 51 (%83,6)'inde *ireA*, 55 (%90,2)'inde *zapA*, 60 (%98,4)'ında *flaA*, 53 (%86,9)'ünde *atfA*, 56 (%91,8)'sında *pmfA*, 49 (%80,3)'unda *ucaA* ve 59 (%96,7)'unda *hpmA* geni pozitif saptanmıştır. Sefalosporinlere dirençli izolatların ise 15 (%100)'ünde *ureC*, *zapA* ve *flaA*, 14 (%93,3)'ünde *ireA*, *rsbA*, *atfA* ve *pmfA*, 13 (%86,7)'ünde *ucaA* ve *hpmA* geni pozitif saptanmıştır. Sefalosporinlere duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar ile dirençli izolatlar arasında virülans genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Karbapenem grubu antibiyotiklerin tamamı göz önünde bulundurularak yapılan değerlendirmede ise karbapenemlere duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatların 73 (%100)'ünde *ureC* ve *rsbA*, 62 (%84,9)'sinde *ireA*, 67 (%91,8)'sinde *zapA* ve *pmfA*, 72 (%98,6)'sinde *flaA*, 64 (%87,7)'ünde *atfA*, 60 (%82,2)'ında *ucaA* ve 70 (%95,9)'inde *hpmA* geni pozitif saptanmıştır. Karbapenem grubu antibiyotikler arasında yalnızca ertapeneme karşı direnç gözlemlendiğinden, karbapenem direnci değerlendirmesi sadece ertapenem dirençli izolatlar üzerinden yapılmıştır. Karbapenem dirençli izolatların 3 (%100)'ünde *ureC*, *ireA*, *zapA*, *flaA*, *atfA* ve *pmfA*, 2 (%66,7)'sinde *rsbA*, *ucaA* ve *hpmA* geni pozitif saptanmıştır. Karbapenemlere duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar ile dirençli izolatlar arasında *rsbA* geni varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). İzolatlarda karbapenem grubu antibiyotik direnci ve virülans genlerinin varlığı arasındaki

ilişki Tablo 7’de özetlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı değer kalın punto ile belirtilmiştir.

**Tablo 7:** İzolatların Karbapenem Grubu Antibiyotiklere Gösterdiği Direnç ile Virülans Genlerinin Varlığı Arasındaki İlişki

Virülans geni	Karbapenemlere duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar (n= 73) n (%)	Karbapenemlere dirençli izolatlar (n=3) n (%)	p değeri*
<i>ureC</i>	73 (%100)	3 (%100)	-
<i>ireA</i>	62 (%84,9)	3 (%100)	1,0
<i>zapA</i>	67 (%91,8)	3 (%100)	1,0
<i>rsbA</i>	73 (%100)	2 (%66,7)	<b>0,039</b>
<i>flaA</i>	72 (%98,6)	3 (%100)	1,0
<i>atfA</i>	64 (%87,7)	3 (%100)	1,0
<i>pmfA</i>	67 (%91,8)	3 (%100)	1,0
<i>ucaA</i>	60 (%82,2)	2 (%66,7)	0,462
<i>hpmA</i>	70 (%95,9)	2 (%66,7)	0,152

\* Fisher’s exact ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

Amikasin direnci ile virülans genlerinin varlığı arasındaki ilişki karşılaştırıldığında, amikaside duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatların 73 (%100)’ünde *ureC*, 63 (%86,3)’ünde *ireA*, 67 (%91,8)’sinde *zapA* ve *pmfA*, 72 (%98,6)’sinde *rsbA* ve *flaA*, 64 (%87,7)’ünde *atfA*, 59 (%80,8)’unda *ucaA* ve 69 (%94,5)’unda *hpmA* geni pozitif saptanmıştır. Amikaside dirençli izolatların 3 (%100)’ünde *ureC*, *zapA*, *rsbA*, *flaA*, *atfA*, *pmfA*, *ucaA* ve *hpmA*, 2 (%66,7)’sinde *ireA* geni pozitif saptanmıştır. Amikaside duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar ile dirençli izolatlar arasında virülans genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (p>0,05). Siprofloksasin

direnci ile virülans genlerinin varlığı arasındaki ilişki karşılaştırıldığında, siprofloksasine duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatların 47 (%100)'sinde *ureC* ve *flaA*, 39 (%83)'unda *ireA*, 43 (%91,5)'ünde *zapA* ve *hpmA*, 46 (%97,9)'sında *rsbA*, 41 (%87,2)'inde *atfA*, 42 (%89,4)'sinde *pmfA* ve 37 (%78,7)'sinde *ucaA* geni pozitif saptanmıştır. Siprofloksasine dirençli izolatların 29 (%100)'unda *ureC*, *rsbA* ve *hpmA*, 26 (%89,7)'sında *ireA* ve *atfA*, 27 (%93,1)'sinde *zapA*, 28 (%96,6)'inde *flaA* ve *pmfA* ve 25 (%86,2)'inde *ucaA* geni pozitif saptanmıştır. Siprofloksasine duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar ile dirençli izolatlar arasında virülans genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Trimetoprim-sülfametoksazol direnci ile virülans genlerinin varlığı arasındaki ilişki karşılaştırıldığında, TMP-SXT duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatların 35 (%100)'inde *ureC* ve *flaA*, 28 (%80)'inde *ireA*, 31 (%88,6)'inde *zapA* ve *hpmA*, 34 (%97,1)'ünde *rsbA*, 30 (%85,7)'unda *atfA*, 29 (%82,9)'unda *pmfA* ve 26 (%74,3)'sında *ucaA* geni pozitif saptanmıştır. TMP-SXT dirençli izolatların 41 (%100)'inde *ureC*, *rsbA*, *pmfA* ve *hpmA*, 37 (%90,2)'sinde *ireA* ve *atfA*, 39 (%95,1)'unda *zapA*, 40 (%97,6)'ında *flaA* ve 36 (%87,8)'sında *ucaA* geni pozitif saptanmıştır. TMP-SXT duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar ile dirençli izolatlar arasında *pmfA* ve *hpmA* genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). İzolatlarda TMP-SXT direnci ve virülans genlerinin varlığı arasındaki ilişki Tablo 8'de özetlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı değer kalın punto ile belirtilmiştir.

**Tablo 8:** İzolatlarda Trimetoprim-Sülfametoksazol Direnci ve Virülans Genlerinin Varlığı Arasındaki İlişki

Virülans geni	TMP-SXT <sup>a</sup> 'ye duyarlı ve artmış dozda duyarlı izolatlar (n=35) n (%)	TMP- SXT <sup>a</sup> 'ye dirençli izolatlar (n=41) n (%)	p değeri
<i>ureC</i>	35 (%100)	41 (%100)	-
<i>ireA</i>	28 (%80)	37 (%90,2)	0,206 <sup>b</sup>
<i>zapA</i>	31 (%88,6)	39 (%95,1)	0,405 <sup>c</sup>
<i>rsbA</i>	34 (%97,1)	41 (%100)	0,461 <sup>c</sup>
<i>flaA</i>	35 (%100)	40 (%97,6)	1,0 <sup>c</sup>
<i>atfA</i>	30 (%85,7)	37 (%90,2)	0,725 <sup>c</sup>
<i>pmfA</i>	29 (%82,9)	41 (%100)	<b>0,007<sup>c</sup></b>
<i>ucaA</i>	26 (%74,3)	36 (%87,8)	0,13 <sup>b</sup>
<i>hpmA</i>	31 (%88,6)	41 (%100)	<b>0,041<sup>c</sup></b>

<sup>a</sup> TMP-SXT : Trimetoprim-sülfametoksazol

<sup>b</sup> Pearson ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

<sup>c</sup> Fisher's exact ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

#### 4.4. BİYOFİLM SONUÇLARI

İzolatların biyofilm oluşturma kapasiteleri değerlendirildiğinde, toplam 40 (%52,6) izolatın zayıf, 22 (%28,9) izolatın orta ve 14 (%18,4) izolatın güçlü düzey biyofilm oluşturduğu gözlemlenmiştir. İdrar yolu izolatlarının 24 (%58,5)'ünün zayıf, 15 (%36,6)'inin orta ve 2 (%4,9)'sinin güçlü düzey biyofilm oluşturduğu, yara izolatlarının ise 16 (%45,7)'sının zayıf, 7 (%20)'sinin orta ve 12 (%34,3)'sinin güçlü düzey biyofilm oluşturduğu gözlemlenmiştir. İdrar ve yara izolatlarında biyofilm oluşturma kapasiteleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ). İzolatların biyofilm oluşturma kapasiteleri Tablo 9'da özetlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı değer kalın punto ile belirtilmiştir.

**Tablo 9:** İzolatların Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri

Biyofilm üretimi	İdrar izolatları (n=41) n (%)	Yara izolatları (n=35) n (%)	p değeri*
Biyofilm üretmiyor	-	-	<b>0,004</b>
Zayıf düzey	24 (%58,5)	16 (%45,7)	
Orta düzey	15 (%36,6)	7 (%20)	
Güçlü düzey	2 (%4,9)	12 (%34,3)	

\* Pearson ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamızda, idrar kültürü alınan hastaların 10 (%24,4)'unun kateterize edildiği, 31 (%75,6)'inin ise edilmediği tespit edilmiştir. Kateterize edilen hasta izolatlarının 2 (%20)'sinin zayıf, 7 (%70)'sinin orta ve 1 (%10)'inin güçlü düzey, kateterize edilmeyen hasta izolatlarının ise 22 (%71)'sinin zayıf, 8 (%25,8)'inin orta ve 1 (%3,2)'inin güçlü düzey biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. İdrar kültürü alınan hastalarda kateterize edilen ve edilmeyen hasta izolatları arasında biyofilm oluşturma kapasiteleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). İstatistiksel analiz için zayıf düzey biyofilm üreticileri bir grup, orta ve güçlü düzey biyofilm üreticileri ayrı bir grup olarak sınıflandırılmıştır. İdrar kültürü alınan hastaların kateterizasyon durumunun izolatların biyofilm oluşturma kapasiteleri ile karşılaştırılması Tablo 10'da raporlanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı değer kalın punto ile belirtilmiştir.

**Tablo 10:** Kateterizasyon Durumuna Göre İdrar Yolu İzolatlarının Biyofilm Oluşturma Kapasitelerinin Değerlendirilmesi

Biyofilm üretimi	Kateterize edilmeyen hasta izolatları (n=31) n (%)	Kateterize edilen hasta izolatları (n=10) n (%)	p değeri*
Zayıf Düzey	22 (%71)	2 (%20)	<b>0,006</b>
Orta Düzey	8 (%25,8)	7 (%70)	
Güçlü Düzey	1 (%3,2)	1 (%10)	

\* Fisher's exact ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

İzolatların virülans genlerinin varlığı ve biyofilm oluşturma kapasiteleri arasındaki ilişki karşılaştırıldığında, zayıf düzey biyofilm üreticilerinin 40 (%100)'ünde *ureC*, 32 (%80)'ünde *ireA*, 34 (%85)'ünde *zapA* ve *pmfA*, 39 (%97,5)'ünde *rsbA* ve *flaA*, 31 (%77,5)'ünde *atfA*, 28 (%70)'ünde *ucaA* ve 36 (%90)'sında *hpmA* geni saptanmıştır. Orta ve güçlü düzey biyofilm üreticilerinin ise 36 (%100)'sında *ureC*, *zapA*, *rsbA*, *flaA*, *atfA*, *pmfA* ve *hpmA*, 33 (%91,7)'ünde *ireA* ve 34 (%94,4)'ünde *ucaA* geni saptanmıştır. Zayıf düzey biyofilm üreticileri ile orta ve güçlü düzey biyofilm üreticileri arasında *zapA*, *atfA*, *pmfA* ve *ucaA* genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ). İzolatların virülans genlerinin varlığı ve biyofilm oluşturma kapasiteleri arasındaki ilişki Tablo 11'de özetlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı değerler kalın punto ile belirtilmiştir.

**Tablo 11:** İzolatların Virülans Genlerinin Varlığı ile Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri Arasındaki İlişki

Virülans genleri	Zayıf düzey biyofilm üreticileri (n=40) n (%)	Orta ve güçlü düzey biyofilm üreticileri (n=36) n (%)	p değeri*
<i>ureC</i>	40 (%100)	36 (%100)	-
<i>ireA</i>	32 (%80)	33 (%91,7)	0,149
<i>zapA</i>	34 (%85)	36 (%100)	<b>0,026</b>
<i>rsbA</i>	39 (%97,5)	36 (%100)	1,0
<i>flaA</i>	39 (%97,5)	36 (%100)	1,0
<i>atfA</i>	31 (%77,5)	36 (%100)	<b>0,003</b>
<i>pmfA</i>	34 (%85)	36 (%100)	<b>0,026</b>
<i>ucaA</i>	28 (%70)	34 (%94,4)	<b>0,006</b>
<i>hpmA</i>	36 (%90)	36 (%100)	0,117

\* Fisher's exact ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

İzolatların antibiyotik duyarlılık testi sonuçları ile biyofilm oluşturma kapasiteleri arasındaki ilişki incelendiğinde ise zayıf düzey biyofilm üreticilerinin 15 (%37,5)'inin ampisiline, 7 (%17,5)'sinin amoksisilin-klavulanata, 5 (%12,5)'inin sefuroksime, 2 (%5)'sinin seftazidim ve sefepime, 3 (%7,5)'ünün seftriaksona, 1 (%2,5)'inin ertapeneme, 10 (%25)'unun siprofloksasine ve 13 (%32,5)'ünün TMP-SXT'e dirençli olduğu saptanmıştır. Orta ve güçlü düzey biyofilm üreticilerinin ise 21 (%58,3)'inin ampisiline, 11 (%30,6)'inin amoksisilin-klavulanata, 1 (%2,8)'inin piperasilin-tazobaktama, 10 (%27,8)'ünün sefuroksime, 4 (%11,1)'ünün seftazidime, 8 (%22,2)'inin seftriaksona, 5 (%13,9)'inin sefepime, 2 (%5,6)'sinin ertapeneme, 3 (%8,3)'ünün amikasine, 19 (%52,8)'ünün siprofloksasine ve 28 (%77,8)'inin TMP-SXT'e dirençli olduğu saptanmıştır. Hiçbir izolatta meropenem direnci saptanmamıştır. Zayıf düzey biyofilm üreticileri ile orta ve güçlü düzey biyofilm üreticileri arasında siprofloksasin ve TMP-SXT

direnci açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). İzolatların antibiyotik direnç profili ve biyofilm oluşturma kapasitelerinin karşılaştırılması Tablo 12’de belirtilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı değerler kalın punto ile belirtilmiştir.

**Tablo 12:** İzolatların Antibiyotik Direnç Profilleri ile Biyofilm Oluşturma Kapasiteleri Arasındaki İlişki

Antibiyotikler	Zayıf düzey biyofilm üreticilerinden (n=40) direnç gösterenler n (%)	Orta ve güçlü düzey biyofilm üreticilerinden (n=36) direnç gösterenler n (%)	p değeri
Ampisilin	15 (%37,5)	21 (%58,3)	0,069 <sup>b</sup>
Amoksisilin-klavulanat	7 (%17,5)	11 (%30,6)	0,181 <sup>b</sup>
Piperasilin tazobaktam	0	1 (%2,8)	0,474 <sup>c</sup>
Sefuroksim	5 (%12,5)	10 (%27,8)	0,095 <sup>b</sup>
Seftazidim	2 (%5)	4 (%11,1)	0,414 <sup>c</sup>
Seftriakson	3 (%7,5)	8 (%22,2)	0,069 <sup>b</sup>
Sefepim	2 (%5)	5 (%13,9)	0,246 <sup>c</sup>
Ertapenem	1 (%2,5)	2 (%5,6)	0,601 <sup>c</sup>
Meropenem	0	0	-
Amikasin	0	3 (%8,3)	0,102 <sup>c</sup>
Siprofloksasin	10 (%25)	19 (%52,8)	<b>0,013<sup>b</sup></b>
TMP-SXT <sup>a</sup>	13 (%32,5)	28 (%77,8)	<b>&lt;0,001<sup>b</sup></b>

<sup>a</sup> TMP-SXT : Trimetoprim-sülfametoksazol

<sup>b</sup> Pearson ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

<sup>c</sup> Fisher’s exact ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

## 5. TARTIŞMA

*Proteus mirabilis*, toprakta, suda ve memeli bağırsak florasında doğal olarak bulunabilen, özellikle yapısal ve fonksiyonel anomalisi olan bireylerde ve kateterize hastalarda üriner sistem başta olmak üzere, yara yeri, solunum yolu, göz, gastrointestinal sistem gibi birçok farklı bölgede enfeksiyona neden olabilen fırsatçı bir patojendir (57). Dokulara, mukozal yüzeylere, kateterlere, invaziv tıbbi cihazlara ve komşu bakterilere bağlanmaya yardımcı olan fimbriya ve adezinler, taş ve kristalin biyofilm oluşumuna yardımcı olan üreaz enzimi, yüzeyler üzerindeki “swarming” hareketi, kemotaksi proteinleri, demir ve çinko alımı için sentezlenen özel proteinler, HpmA hemolizin ve proteus toksik aglütinin sitotoksinleri gibi bakteriye ait bir çok virülans faktörünün, bakterinin biyofilm oluşturma kapasitesine, antimikrobiyal tedavilere karşı olan dirence ve enfeksiyonların kronikleşmesine katkı sağlayabildiği bilinmektedir. Tüm bu faktörlere bağlı olarak *P. mirabilis*'e bağlı gelişen İYE'ler tedavi edilmediği takdirde, ürolitiazis, bakteriyemi ve sepsis gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir (70).

*Proteus mirabilis*, İYE'nin yanı sıra enfekte olmuş yaralardan da sıklıkla izole edilebilmektedir. Bu patojen, özellikle acil cerrahi yara ve çoklu ilaç direncine sahip yanık yarası enfeksiyonlarında, venöz ülserlerde, basınç yaralarında ve diyabetik ayak ülserlerinde yaygın olarak tanımlanmaktadır (71–74). Bakterinin, sahip olduğu virülans faktörleri, biyofilm oluşturma yeteneği ve antibiyotiklere karşı kazanmış olduğu direnç sebebiyle yarada granülasyon ve iyileşme dengesini bozduğu, etkin tedaviyi geciktirdiği ve enfeksiyonun kronikleşme sürecine katkıda bulunduğu bilinmektedir (22,58). İyileşmeyen kronik yaraların %60'ında bakteriye ait biyofilm yapısının bulunduğu, bu yapıların antibiyotik direnç genlerinin ve virülans faktörlerinin horizontal yayılımı için ayrıcalıklı bir ortam oluşturduğu ve serbest yaşayan bakterilere göre konjugasyonu 700 kat daha verimli hale getirdiği raporlanmaktadır (75). Standart antibiyotik tedavisinin yalnızca serbest yaşayan hücreleri hedef alıp biyofilm içinde derinlere yerleşen sesil hücrelere etkili olamaması, özellikle yara yeri enfeksiyonlarında tedavinin zorlaşmasına ve enfeksiyonun tedaviye rağmen yeniden ortaya çıkmasına yol açmaktadır (76) Tüm bu faktörler göz önüne alındığında, *P. mirabilis*'in biyofilm oluşturma yeteneği ve virülans

mekanizmaları arasındaki ilişkinin ve durumun güncel antibiyotik direnci üzerindeki etkisinin daha iyi anlaşılması, enfeksiyonların patogenezi ve etkin tedavi stratejilerinin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamıza dahil olan *P. mirabilis* izolatlarının %53,9'u idrar, %46,1'i ise yara kültürlerinden izole edilmiştir. Çalışmamızda, her yaş grubundan hastanın *P. mirabilis* ile enfekte olabildiği belirlense de çalışma izolatlarının %72,3'ünün 16 yaş ve üzeri bireylerden elde edildiği tespit edilmiştir. Çalışmamıza dahil olan hastaların demografik özelliklerine bakıldığında ise genel olarak kadın cinsiyette (%52) olma oranı yüksek saptanırken idrar kültürü alınan hastaların %65,8'inin kadın cinsiyette, yara kültürü alınan hastaların ise %65,71'inin erkek cinsiyette olduğu belirlenmiştir. Yürütülen benzer çalışmalarda, *P. mirabilis*'e bağlı İYE gelişen hastaların genellikle kadın cinsiyette olduğu, yara yeri enfeksiyonlarında ise genellikle erkek cinsiyetin ön plana çıktığı raporlanmaktadır. Bu durum, erkeklerin zorlayıcı fiziksel aktiviteler gerektiren mesleklerde çalışmaları, daha fazla fiziksel stresle karşılaşmaları ve bu nedenle yara ve enfeksiyon riskinin daha fazla olmasının bir sonucu olarak açıklanmıştır (77–79).

*Proteus mirabilis*'e bağlı enfeksiyonlarda artan antibiyotik direnci, tedaviyi oldukça zorlaştıran önemli bir faktördür. *P. mirabilis*'e bağlı enfeksiyonların tedavisinde, ampisilin, amoksisilin-klavulanat, piperasilin-tazobaktam, TMP-SXT, sefuroksim, seftriakson, sefepim, ertapenem, meropenem, siprofloksasin, levofloksasin, gentamisin ve amikasin kullanılabilir. Mo ve ark., 2022 yılında Çin'de yürüttükleri çalışmalarında *P. mirabilis*'e bağlı İYE'lerde sülfametoksazol, levofloksasin, sefuroksim ve seftriakson tedavisine karşı düşük yanıt alındığını bildirmekte ve tedavide seftazidim, amikasin, meropenem ve piperasilin-tazobaktam antibiyotiklerinin tercih edilmesini önermektedir (80). Çalışmamız bu bulgularla paralellik göstermekte olup idrar izolatlarında en yüksek direnç oranları sırasıyla TMP-SXT (%43,9), ampisilin (%37,1) ve siprofloksasine (%22) karşı tespit edilmiş, bunu amoksisilin-klavulanat (%14,6), sefuroksim (%9,8), seftriakson (%4,9), seftazidim ve sefepim (%2,4) takip etmiştir. Hiçbir idrar izolatında piperasilin-tazobaktam, ertapenem, meropenem ve amikasine karşı direnç tespit edilmemiştir. Milletli ve ark., 2017 yılında idrar kültürlerinde üreme tespit edilen 196 hastanın dahil edildiği çalışmada *P. mirabilis*'in *Escherichia coli* ve *Klebsiella*

*pneumoniae*'dan sonra en sık izole edilen etken olduğu belirtilmiş ve bu izolatlarda çalışmamıza benzer şekilde ampisilin (%40) ve TMP-SXT (%26,6) direnci tespit edilmiştir (81). Değirmenci ve ark. 2022 yılında 772 hastaya ait idrar kültürü sonuçlarını incelediği çalışmalarında, *P. mirabilis* izolatlarında TMP-SXT (%47,1), ampisilin (%66,7), siprofloksasin (%54,80), amoksisilin-klavulanat (%42,4), sefuroksim (%46,7), seftriakson (%39,4), seftazidim (%39,4) ve sefepim (%43,8) direnci tespit etmiştir. Bu çalışmada, çalışmamızdan farklı olarak izolatlarda piperasilin-tazobaktam (%21,2), ertapenem (%34,4), meropenem (%15,6) ve amikasin (%22,9) direncinin saptanması dikkat çekmektedir (79). Rank ve ark. 2018 yılında New York eyaletinde yürüttükleri çalışmalarında, çalışmamızdan farklı olarak idrar örneklerinden izole edilen *P. mirabilis* izolatlarının ampisiline %70, TMP-SXT'ye %87, siprofloksasine %90, seftazidime %99 ve piperasilin-tazobaktama %100 oranında duyarlılık gösterdiği raporlanmıştır (82). Morrissey ve ark. küresel çalışmasında ise *P. mirabilis*, İYE'lerde en sık izole edilen dördüncü bakteri türü olarak tanımlanmış ve ABD'de yaklaşık %8, Avrupa'da %12, Asya'nın bazı bölgelerinde ise %40 oranında GSBL pozitifliği saptandığı bildirilmiştir (83). İlginç olarak, Çin'de 2019 yılında yürütülen bir çalışmada köpeklerden elde edilen *P. mirabilis* izolatlarının %37'sinin GSBL ürettiği ve bu izolatların hepsinin *bla*<sub>TEM</sub> genine sahip olduğu ortaya konmuştur (84). Elde edilen veriler, *P. mirabilis*'te antimikrobiyal direncin bölgesel ve zamansal farklılıklar gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, *P. mirabilis*'e bağlı İYE'lerde ampisilin, amoksisilin-klavulanat, TMP-SXT ve siprofloksasin gibi antibiyotiklere karşı direnç oranlarının belirgin şekilde arttığı dikkat çekmektedir. *P. mirabilis*'in tetrasiklin, tigesiklin ve kolistin gibi antibiyotiklere doğal olarak direnç gösterdiği göz önünde bulundurulduğunda dirençli izolatların ortaya çıkışı, tedavi seçeneklerini oldukça sınırlandırmaktadır (45).  $\beta$ -laktam antibiyotiklerine karşı gelişen direnç ise özellikle hamileler ve çocuklarda tedavi seçeneklerini kısıtladığı için ciddi bir sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle, tedavi süreçlerinin başarı ile sonuçlanması için antibiyotiklerin duyarlılıkları ile uyumlu tedavi yaklaşımlarının desteklenmesi ve daha etkin bir şekilde uygulanması teşvik edilmelidir (81).

Çalışmamızda, yara izolatlarında en fazla direnç sırasıyla TMP-SXT (%65,7), ampisilin (%62,9) ve siprofloksasin (%57,1) antibiyotiklerine karşı görülmüştür. Bunu

amoksisilin-klavulanat (%34,3), sefuroksim ve seftriakson (%25,7), sefepim (%17,1), seftazidim (%14,3), ertapenem ve amikasin (%8,6), piperasilin-tazobaktam (%2,9) takip etmiştir. Hiçbir yara izolatında meropenem karşı direnç gözlemlenmemiştir. Yara izolatlarında ampisilin, amoksisilin-klavulanat, seftriakson, sefepim ve siprofloksasine karşı idrar izolatlarına göre anlamlı olarak daha yüksek direnç tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Abbas ve ark., 2018 yılında Mısır'da yürüttükleri çalışmalarında *P. mirabilis* izolatlarında en yüksek direnç oranlarını sırasıyla yanık yarası (%52) ve diyabetik ayak izolatlarında (%31), en düşük direnç oranlarını ise idrar izolatlarında (%20) saptamıştır. Bu çalışmada ampisilin için tüm izolatlarda direnç gözlemlenirken, yanık yarası izolatlarında amoksisilin-klavulanat için %80, sefepim için %86,67, seftazidim için %86,67 ve TMP-SXT için %86,67 oranında direnç tespit edilmiştir. Ayrıca siprofloksasin için idrar izolatlarında direnç gözlemlenmezken, yanık yarası izolatlarında %40 oranında direnç gözlemlenmiştir (85). Tom ve ark. 2018 yılında Nijerya'da yürüttükleri çalışmada, yara yeri enfeksiyonlarında tüm Proteus türleri arasında *P. mirabilis*'in en sık izole edilen etken olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, bu patojenin en sık olarak yara yeri enfeksiyonu kaynaklı sepsis (%21,43), yanık yarası (%14,29), yara ülseri ve diyabetik ülser (%7,14) ve cerrahi sonrası ülser (%3,57) örneklerinden izole edildiğini raporlamışlardır. Ek olarak, yara izolatlarında amoksisilin-klavulanata karşı %86 ve ampisiline karşı %66,67 oranında direnç saptandığını bildirmişlerdir (77). Zafar ve ark. Pakistan'da 2019 yılında yürüttükleri çalışmalarında ise diyabetik ve cerrahi yaraların yanık yaralarına kıyasla *P. mirabilis* ile daha sık enfekte olduğu ve tüm izolatlarda ampisilin (%87,5), sefuroksim (%95,3), seftriakson (%89), seftazidim (%92,1) ve siprofloksasine (%85,9) karşı direnç oranlarının oldukça yüksek olduğu raporlanmıştır (22). Yıldırım ve ark. çalışmada yanık enfeksiyonları etkenleri arasında *P. mirabilis*'in sıklıkla izole edildiği ve yara kültürlerinden izole edilen *P. mirabilis* izolatlarında ampisilin (%80), TMP-SXT (%80), gentamisin (%50) ve sefuroksim (%50) direnci saptandığı raporlanmıştır (86). Gürbüz ve ark. idrar dışı örnekler için *P. mirabilis* izolatlarında ampisilin (%31,8), TMP-SXT (%40), seftriakson (%44,4), siprofloksasin (%44,4), piperasilin-tazobaktam (%45,5) ve gentamisin (%51,7) için duyarlılık oranlarında azalma gözlemlenmişlerdir. Ayrıca en etkin antibiyotiklerin çalışmamıza benzer şekilde meropenem ve amikasin olduğunu ve

antibiyotik duyarlılıklarındaki azalma sebebiyle tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerinin kısıtlandığını belirtmişlerdir (87). Yapılan son çalışmalarda, *bla*<sub>NDM-1</sub> içeren yaygın ilaça dirençli (XDR) *P. mirabilis* izolatlarının varlığı raporlanmaktadır (88,89). Bu veriler doğrultusunda, yara izolatlarında, idrar izolatlarına kıyasla oldukça yüksek direnç oranlarının tespit edildiği görülmektedir. Ayrıca, dünya genelinde TMP-SXT, florokinolonlar ve aminoglikozidlere karşı direnç oranlarının arttığı ve GSBL ve AmpC  $\beta$ -laktamaz üretimindeki küresel artışın üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı direnç oranlarını yükselttiği dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, karbapenem direnci prevalansı hala düşük seviyelerde gözlemlenmektedir (90). Geçmişte, EUCAST tarafından GSBL üreten *P. mirabilis* izolatlarının tespiti sadece kan kültürü izolatlarında önerilirken, 2017 yılında yapılan bir güncelleme ile bu uygulama tekrar gözden geçirilmiş ve artan direnç oranları nedeniyle GSBL üretimi gösteren *P. mirabilis* izolatlarının daha geniş bir şekilde tespit edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (91). Bu noktada antibiyotik direnç profillerinin izlenmesi ile antimikrobiyal ajanların akılcı kullanımı, direnç yayılımını ve yaygın ilaca dirençli izolatların ortaya çıkmasını kontrol altına almak için büyük bir önem taşımaktadır.

*Proteus mirabilis*'in patojenitesi, operonlarda yer alan genler tarafından kontrol edilen bir dizi virülans faktörlerine dayanmaktadır. *P. mirabilis*'in sahip olduğu virülans genleri ile antimikrobiyal direnç arasında da doğrudan bir ilişki olduğu bilinmektedir. Hatta bazı virülans genlerinin antibiyotik direnci ile ilişkili genler ile aynı plazmid veya hareketli genetik elemanlar üzerinde bulunduğu raporlanmaktadır. Bu sayede mikroorganizma konakçıya zarar vermemekle kalmayıp aynı zamanda tedaviye daha dirençli hale gelmektedir. Yapılan çalışmalar, *P. mirabilis* izolatlarında virülans genlerinin varlığının konakçının klinik durumuna, izolatların genetik yapısına, coğrafik bölgeye, örnek türüne, örnek boyutuna ve tanımlama yöntemlerine göre değişebildiğini raporlamaktadır (92).

Üreaz enzimi *P. mirabilis*'in en önemli virülans faktörü olarak tanımlanmakta ve enzim aktivitesinin biyofilm oluşumuna katkıda bulunduğu, böbrek ve mesane taşı oluşumuna zemin hazırladığı ve kateter tıkanıklıklarına sebep olduğu raporlanmaktadır (93). Üre operonunda bulunan genler arasında (*ureABC*, *ureDEFG* ve *ureR*) *ureC*'nin sentez sırasında önemli bir rol üstlendiği bilinmektedir (22,94). Çalışmamızda tüm *P.*

*mirabilis* izolatlarında *ureC* geni pozitif saptanmıştır. Zafar ve ark. çalışmalarında da, çalışmamıza benzer şekilde *P. mirabilis* izolatlarının tamamının üreaz enzimi ürettiği ve bu enzimin tanısal özellik taşıdığı raporlanmaktadır (22). Jones BD ve ark., izojenik üreaz negatif mutant izolat ile enfekte edilmiş farelerin idrar yollarının çok daha az sayıda bakteri ile kolonize olduğunu ve üreaz enziminin bakterinin enfeksiyon oluşturma yeteneği açısından önemli bir virülans faktörü olduğunu ispatlamıştır (95).

*Proteus mirabilis*'in virülans faktörleri arasında yer alan dış zar proteinleri (OMP'ler), bakterinin çeşitli ortamlar ile etkileşime girmesi ve hayatta kalabilmesi için önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle bakteriyel büyüme için esas faktörlerden biri olan ekstraselüler  $Fe^{+3}$  (ferrik) demirin hücre içine alınımının bir yolu ferrik şelatlayıcılar olarak bilinen sideroforların hücre dışına salgılanmasıdır. Oluşan ferri-siderofor yapısı, OMP reseptörüne yüksek özgüllükle bağlanmakta, hücre membranı üzerindeki TonB-ExbB-ExbD protein kompleksinin sağladığı enerji sayesinde ABC taşıyıcı sistemi tarafından hücre içine taşınmaktadır. Sonrasında, sitozolde oluşan ferri-siderofor kompleksi  $Fe^{+2}$  (ferröz) formuna indirgenerek siderofordan ayrılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, *P. mirabilis* IreA proteininin ferri-siderofor taşıyıcısı olarak görev aldığı ve düşük demir koşullarında bulunan bakterilerde ferri-siderofor reseptör lokusunda yer alan *ireA* gen ekspresyonunun artış gösterdiği raporlanmaktadır (41,96,97). Çalışmamızda idrar izolatlarında %85,4, yara izolatlarına ise %85,7 oranında *ireA* geni pozitifliği saptanmış ve *ireA* geni pozitif saptanan izolatlarda, *ireA* negatif izolatlara göre ampisilin,  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitörü kombinasyonları, sefalosporinler, karbapenemler, amikasin, siprofloksasin ve TMP-SXT direnç oranları açısından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). Phiri ve ark. çalışmasında, elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde *P. mirabilis* izolatlarında *ireA* pozitifliği idrar izolatlarında %100 iken diyabetik ayak izolatlarında %81 olarak raporlanmıştır (93). Oliveira ve ark. çalışmasında ise idrar kültürlerinden izole edilen *P. mirabilis* izolatlarında %100 oranında *ireA* pozitifliği saptanmış ve bu izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları TMP-SXT için %78,1, ampisilin için %80,3, siprofloksasin için %96,7, amikasin ve amoksisilin-klavulanat için %99,5, meropenem ve piperasilin-tazobaktam için %100 olarak raporlanmıştır (98). Fare modellerinde ise siderofor sentetaz/reseptör mutantları ile yapılan çalışmalarda,

transüretal inokülasyon sonrası mutantların vahşi tip *P. mirabilis* HI4320 suşuna göre patojenitesinin azaldığı raporlanmıştır. (15). Elde edilen veriler, *ireA* geninin *P. mirabilis* izolatlarında yüksek prevalansa sahip olduğunu göstermektedir. Bu genin, bakterinin konak içerisinde siderofor aracılı demir temini yoluyla hayatta kalma ve enfeksiyon oluşturma kapasitesine katkı sağladığı anlaşılmaktadır. Ancak, *ireA*'nın antimikrobiyal dirence doğrudan katkıda bulunduğunu gösteren bir bulgu elde edilememiştir. Bu da, *ireA* pozitifliğinin antibiyotik direncinden ziyade, enfeksiyöz sürecin başlatılması ve sürdürülmesi gibi virülans ile ilgili mekanizmalarda işlevsel olabileceğini düşündürmektedir.

ZapA ise konak immünoglobulinlerini, (IgA1, IgA2 ve IgG), kompleman proteinlerini (C1q ve C3), kollajeni, fibronektin ve laminin gibi matris proteinlerini, aktin ve tübülün gibi iskelet proteinlerini ve doğuştan gelen bağışıklık yanıtı ile ilişkili antimikrobiyal peptitleri (insan  $\beta$ -defensin 1, LL37) parçalama yeteneğine sahip ekstraselüler bir metalloproteazdır. Bu özellikler sayesinde ZapA'nın konak antimikrobiyal yanıtını zayıflatarak bağışıklık sisteminden kaçışa ve enfeksiyon gelişimine zemin hazırlamasına katkıda bulunduğu bilinmektedir (42). Çalışmamızda idrar izolatlarının %92,7'si, yara izolatlarının ise %91,4'ünde *zapA* geni pozitif saptanmış ve *zapA* geni varlığı ile ampisilin,  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitörü kombinasyonları, sefalosporinler, karbapenemler, amikasin, siprofloksasin ve TMP-SXT direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). Ewaoche ve ark. çalışmasında, idrar, balgam, vajinal ve üretral sürüntü örneklerinden izole edilen *P. mirabilis* izolatlarında çalışmamıza benzer şekilde yüksek oranda (%100) *zapA* pozitifliği saptanmıştır (99). Ancak, farklı çalışmalarda *zapA* pozitifliği değişken oranlarda tespit edilmiştir. Örneğin Phiri ve ark., idrar ve diyabetik ayak örneklerinden elde edilen *P. mirabilis* izolatlarında *zapA* pozitifliğini, çalışmamızdan farklı olarak idrar izolatlarında %56, diyabetik ayak izolatlarında ise %78 oranında raporlamıştır (93). Alsaadi ve ark. ise, yine çalışmamızdan farklı olarak idrar örneklerinden izole edilen *P. mirabilis* izolatlarında *zapA* geni pozitifliğinin sadece %10 olduğunu belirtmiştir (100). Bu durum, *zapA* geni varlığının bölgesel ve klinik kaynaklara göre farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca Belas ve ark., bakterinin ZapA dışında farklı mekanizmalar

aracılığıyla da antimikrobiyal peptitleri parçalayabildiğini ve ZapA<sup>-</sup> mutant izolatların da antimikrobiyal peptitlere karşı direnç gösterebildiğini bildirmiştir (42). Bu sonuç, *P. mirabilis*'in antimikrobiyal peptitlere karşı savunma mekanizmalarını açıklamak için ZapA'nın yeterli olmadığını göstermektedir. Tüm veriler değerlendirildiğinde, klinik örneklerden elde edilen *P. mirabilis* izolatları arasında *zapA* geni varlığı açısından farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *P. mirabilis*'in sadece ZapA yoluyla değil, farklı mekanizmalar ile de antimikrobiyal peptitlerin etkisinden korunabildiği ve ZapA'nın doğrudan antimikrobiyal direnç ile ilişkilendirilmediği dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda tüm izolatlarda yüksek oranda *zapA* pozitifliği saptanmış olup, bu durum *zapA*'nın virülans üzerindeki etkisini destekleyen önemli bir bulgu olarak değerlendirilmektedir.

*Proteus mirabilis*'in sahip olduğu virülans faktörlerinden bir diğeri olan “swarming” hareketinin, kateter kaynaklı İYE’lerde, üst üriner sistem enfeksiyonlarında ve pyelonefrit gelişiminde önemli rol oynadığı bildirilmekle beraber yürütülen bazı çalışmalarda hareketsiz *P. mirabilis* izolatlarının da benzer komplikasyonlarla İYE gelişimini indükleyebildiği belirtilmiştir (101). “Swarming” hareketi, farklı fazları içeren dinamik bir süreçtir ve bakterinin çevresel sinyallere yanıt olarak hareket kabiliyetini ve virülans faktörlerinin ekspresyonunu düzenleyen 25-50 genlik regülatör bölgesinin koordineli ifadesi tarafından kontrol edilmektedir. Bu noktada, farklılaşma fazında flagellar filamentin alt birimi olan FlaA proteini sentez oranında belirgin artış, buna karşılık fimbriya (MR/P, UCA, PMF, ATF, PMP) ekspresyonunda ise belirgin azalış gözlemlenmektedir. Bu dinamik süreç sayesinde, “swarming” sırasında bakterinin hareket kabiliyeti arttırılırken yüzeylere yapışma eğiliminin azalmasına olanak tanınmaktadır (36,102,103). “Swarming” ve konsolidasyon fazındaki hücrelerde transkripsiyon profillerini ortaya koyan mikrodizi analizi sonucunda, *flaA* geninin sırasıyla üçüncü ve altıncı en sık eksprese edilen gen olarak tanımlandığı belirlenmiştir (34) “Swarming” hareketi sırasında RsbA gibi düzenleyici proteinlerin de bu süreçte kritik bir rol oynadığı ve üreaz, proteaz ve hemolizin gibi virülans faktörlerinin ekspresyonunu düzenledikleri bilinmektedir (104). RsbA, iki bileşenli düzenleyici proteinler sınıfına ait olan, çevresel koşulları algılayarak bakterinin “swarming” kabiliyetini ortam koşullarına (popülasyon

yoğunluğu, yüzey teması, peptitler, aminoasitler, intraselüler katyonlar) uyumlu olacak şekilde düzenleme görevi gören ve hücre membranında bulunan bir sensör histidin kinazdır. RsbA'nın dahil olduğu bu düzenleyici sistemlerin, bakteriyel büyüme, biyofilm oluşumu, "quorum sensing" mekanizmaları, virülans faktörlerinin ekspresyonu ve dışa atım pompaları üzerinde de etkisi olduğu raporlanmaktadır (15,33,104). Liaw ve ark. çalışmasında, *rsbA* geninin "swarming" hareketini ve hemolizin, proteaz ve üreaz gibi virülans faktörlerinin ekspresyonunu baskıladığı, miristik asit, laurik asit ve palmitik asit gibi "swarming" hareketini inhibe eden moleküllerin etkisini RsbA proteini bağımlı bir yolak üzerinden gösterdiğini raporlamışlardır (104). Çalışmamızda idrar izolatlarının hepsinde (%100) ve yara izolatlarının %97,1'inde *flaA* ve *rsbA* genleri pozitif saptanmıştır. AL-Dulaimy ve ark., çalışmamıza benzer şekilde çeşitli kliniklerden elde edilen *P. mirabilis* izolatlarının %100'ünde *rsbA* ve *flaA* pozitifliği saptamıştır (68). Çalışmamızda ayrıca karbapenemlere duyarlı ve orta duyarlı izolatlarda *rsbA* geni anlamlı olarak daha sık tespit edilmiştir (p=0,039). Literatürde *rsbA* geni ve karbapenem duyarlılığı arasındaki ilişkiye dair bilgiler sınırlıdır. Ancak Zhang ve ark., *rsbA*'nın dahil olduğu iki bileşenli sistemlerin porin ekspresyonu ile pozitif korelasyon gösterdiğini tespit etmiştir. Bu çalışmada, iki bileşenli sistemlerin baskılandığı durumlarda, karbapenemlerin hücre içine girişinde rol oynayan OmpK35/36 gibi porinlerin ekspresyonunun baskılandığı belirtilmiştir. Bunun sonucunda dış zar geçirgenliğinin azaldığı ve karbapenem direncine katkıda bulunduğu ifade edilmiştir (105). Öte yandan, Dehnavi ve ark. çalışması bu bilgiler ile çelişmektedir. Bu çalışmada, idrar örneklerinden elde edilen *P. mirabilis* izolatlarında %68 oranında *rsbA* pozitifliği saptanmış ve *rsbA* pozitif izolatların 26'sının %50'den fazla antibiyotik direnci gösterdiği raporlanmıştır (106). Elde edilen bulgular, *flaA* ve *rsbA* genlerinin *P. mirabilis* izolatlarında yüksek oranda pozitif bulunduğunu ve bu genlerin virülansta önemli bir rol oynadıklarını göstermektedir. Özellikle çalışmamızda *rsbA* geninin karbapenem duyarlı izolatlarda daha yüksek oranda tespit edilmesi, bu genin antibiyotik geçirgenliğini etkileyen dış zar porinlerinin ekspresyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgu, literatürde yalnızca sınırlı sayıda çalışmada ele alınmış olup, bu ilişkinin altta yatan mekanizmalarla birlikte daha kapsamlı ve çok yönlü araştırmalara konu edilmesi gerektiği düşünülmektedir. Bu

yönüyle *rsbA*, hem *P. mirabilis*'in çevresel adaptasyonu ve enfeksiyon oluşturma yeteneği hem de antibiyotik duyarlılık profili üzerinde etkili olabilecek çok yönlü bir düzenleyici olarak ön plana çıkmaktadır.

*Proteus mirabilis*'in sahip olduğu fimbriyaların konak hücrelerine ve kateter yüzeylerine bağlanma yeteneği enfeksiyon gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar, *P. mirabilis*'in farklı fimbriyalar aracılığıyla çeşitli ortamlara tutunma ve enfeksiyon oluşturma stratejileri geliştirdiğini göstermektedir. UCA'nın deskuame olmuş üroepitelyal hücrelerine bağlanabildiği ve aynı zamanda bağırsak kolonizasyonunda rol oynayabildiği, PMF'nin mesane epiteline seçici olarak bağlanabildiği ve İYE patogenezinde önemli bir faktör olabileceği, ATF'nin ise özellikle cansız yüzeye tutunmada, çevresel kolonizasyonda ve biyofilm oluşumunda rol oynadığı raporlanmıştır (3,40). Çalışmamızda *atfA*, *pmfA* ve *ucaA* için idrar izolatlarında sırasıyla %87,8, %97,6 ve %75,6, yara izolatlarında ise sırasıyla %88,6, %85,7 ve %88,6 oranında pozitiflik tespit edilmiştir. Ayrıca *pmfA* geni pozitif olan izolatlarda TMP-SXT'ye karşı direncin anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir (p=0,007). Oliveira ve ark. çalışmasında, idrar kültürlerinden izole edilen *P. mirabilis* izolatlarında fimbriyal adezin genlerinde çalışmamıza benzer şekilde yüksek oranda pozitiflik (%100 *mrpA*, *pmfA* ve *atfA*, %81,5 *ucaA*) saptanmıştır. Bununla birlikte *ucaA* geni varlığı ile antimikrobiyal direnç arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (98). Hussein ve ark. çalışmasında, elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde idrar kültürlerinden elde edilen *P. mirabilis* izolatlarında yüksek oranda (%98,4) *atfA* pozitifliği saptanmıştır. Bu çalışmada, *atfA* virülans geninin varlığı TMP-SXT direnci ile ilişkilendirilmiş ve *atfA* geninin biyofilm oluşumunda önemli bir role sahip olabileceği belirtilmiştir (107). Ramatla ve ark. çalışmasında ise 26 *P. mirabilis* izolatının hepsinde fimbriyal adezin genlerinin (*mrpA*, *pmfA* ve *atfA*) pozitif olduğu ve izolatların %62'sinin siprofloksasine dirençli olduğu bildirilmiştir (108). Tüm veriler değerlendirildiğinde, fimbriyal adezin genlerinin *P. mirabilis* izolatlarında yüksek oranda tespit edildiği ortaya konulmakta ve bu durum, fimbriyal yapıların *P. mirabilis*'in patogenezindeki belirleyici rolünü destekler niteliktedir. Fimbriyal adezinlerin konak hücrelerine tutunmayı ve yüzeylerde kalıcılığı kolaylaştırarak biyofilm oluşumunu desteklediği bilinmektedir. Biyofilm yapısının, bakterileri dış etkenlere karşı koruyan

kompleks bir savunma mekanizması oluşturduğu göz önüne alındığında, bu genlerin biyofilm oluşumuna olan belirgin katkısı, patojenin antibiyotiklere karşı direnç kazanmasında etkili olabilecek başlıca mekanizmalardan biri olarak öne çıkmaktadır.

*P. mirabilis*, insan ve koyun eritrositlerinin hemolizini kalsiyum bağımsız ve por oluşturuvcu bir özelliğe sahip olan HpmA aracılığı ile gerçekleştirmektedir. Bu hemolizin, hedef ökaryotik zarlara etki göstererek Na<sup>+</sup> iyonlarının hücre dışına çıkmasına, hücre yıkımına ve doku hasarına neden olmaktadır (44). HpmA üretiminin, “swarmer” hücre farklılaşması sırasında artış gösterdiği ve bu süreçte doku invazyonuna önemli bir katkı sağladığı raporlanmıştır (40). Çalışmamızda idrar izolatlarının %95,1’inde ve yara izolatlarının %94,3’ünde *hpmA* geni pozitif saptanmış ve *hpmA* geni pozitif saptanan izolatlarda TMP-SXT’ye karşı direncin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (p=0,041). Hussein ve ark. çalışmasında idrar kültürlerinden elde edilen *P. mirabilis* izolatlarında çalışmamıza benzer şekilde %98,4 oranında *hpmA* pozitifliği tespit edilmiş ve *hpmA* pozitif olan izolatlarda seftriakson direncinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (p<0,05) (107). Çalışmamızla uyumlu olarak, Cestari ve ark. 211 üropatojenik *P. mirabilis* izolatının 205 (%97,15)’inde *hpmA* geni varlığını doğrulamış, Sanches ve ark. ise 32 *P. mirabilis* izolatının hepsinde (%100) *hpmA* geni pozitif olduğunu ve izolatların %78,13’ünün çoklu ilaca dirençli olduğunu raporlamıştır (44,67). Bu bulgular doğrultusunda, çalışmamız ve literatürdeki benzer çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde *hpmA* geninin *P. mirabilis* izolatlarında yüksek prevalansa sahip olduğu görülmektedir. Söz konusu genin sıklıkla tespit edilmesi, patogeneizde önemli bir rol oynadığını düşündürmekle birlikte *hpmA* geni pozitif izolatlarda gözlemlenen artmış direnç oranları dikkat çekicidir. Motamedi ve ark., hemolizin yapısının konak hücreleri parçalayarak bakterinin immün savunma mekanizmalarından kaçışını kolaylaştırdığı ve antibiyotiklerin etkinliğini azaltarak dolaylı yoldan direnç gelişimini arttırdığını bildirmiştir (109). Bu bulgular, *hpmA* geninin hem önemli bir virülans faktörü olduğunu hem de antibiyotik direnci ile ilgili patojenik mekanizmalar içerisinde yer alabileceğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda yara yeri enfeksiyonlarından izole edilen *P. mirabilis* izolatlarının, idrar izolatlarına göre anlamlı olarak daha güçlü düzeyde biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir (p=0,004). Majtan ve ark., kronik ve nadiren akut yara enfeksiyonlarında *P.*

*mirabilis*'in, hem monobakteriyel hem de birçok bakteri türünü içeren (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*) dayanıklı biyofilm yapıları oluşturabildiğini, bu yapıların yara iyileşmesini geciktirdiğini ve tedaviye karşı olan direnci belirgin olarak arttırdığını raporlamıştır (59). Smith ve ark., çalışmamızla uyumlu olarak cilt örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarının, diğer bölgelerden (boğaz, balgam, göz, idrar, kan ve genitoüriner) elde edilen izolatlara göre anlamlı olarak daha güçlü düzeyde biyofilm oluşturduğunu raporlamıştır (110). Wasfi ve ark., çalışmamıza benzer şekilde yara örneklerinden izole edilen *S. aureus* ve *Enterobacter* sp. izolatlarının idrar izolatlarına göre daha güçlü biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğunu raporlamış ve aradaki bu farkın virülans faktörlerinin izolasyon bölgesine bağlı olarak farklılık göstermesi ile ilişkili olabileceğini öne sürmüştür (111). Çalışmamızda ayrıca, idrar kültürü alınan hastalardan kateterize edilenlerin, edilmeyen hasta izolatlarına göre anlamlı olarak daha güçlü düzeyde biyofilm oluşturdıkları tespit edilmiştir ( $p=0,006$ ). Hastalarda idrar birikimini önlemek ve idrar toplamak amacıyla kateterler sıklıkla kullanılmasına rağmen, kateter yüzeyleri bakterilerin kolonizasyonu ve biyofilm oluşumu için elverişli bir yüzey oluşturmakta, bu da kateter ile ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarına ve diğer komplikasyonlara yol açabilmektedir (112). *P. mirabilis*'in üriner sistem enfeksiyonları sırasında kateterlerin düzensiz lümen yüzeylerine kolonize olarak, üreaz enzimi ve kapsül polisakkaritleri yardımıyla belirgin biyofilm yapıları oluşturduğu bilinmektedir. Ayrıca, oluşan biyofilm yapısı sayesinde yüzeylere güçlü bir şekilde tutunan bakteri, bu bölgede kateter tıkanıklıklarına yol açmakta, antibiyotik etkisinden ve konak bağışıklık yanıtından korunabilmektedir (40). Tabatabaei ve ark., çalışmamızı destekleyecek şekilde kateterize edilmiş hastalardan elde edilen üropatojenik *P. mirabilis* izolatlarının kateterize olmayan hastalara göre anlamlı olarak daha güçlü düzeyde biyofilm oluşturduğunu tespit etmiştir ( $p<0,001$ ) (113).

Çalışmamızda, virülans genlerinin varlığı açısından idrar ve yara izolatları arasında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen ( $p>0,05$ ), kateterizasyon oranının düşük olması sebebiyle bu izolatların biyofilm üretme kapasitesinin yara izolatlarına göre sınırlı kaldığı düşünülmektedir. Donlan ve ark., biyofilmin çevresel koşullardan etkilenen karmaşık bir süreç olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada, mikroorganizmaların

özellikle pürüzlü, hidrofobik ve nonpolar yapılar üzerinde daha hızlı kolonize olduğunu ve yüksek akış hızı, pH, sıcaklık ve antimikrobiyal ajanların varlığı gibi ortam koşullarının biyofilm oluşumunu etkileyebildiği gözlemlenmektedir. Mikroorganizmalar, bu koşullara yanıt olarak “quorum sensing” mekanizmalarını aktive etmekte ve çevresel değişimlere uyum sağlayarak biyofilm oluşumu ile ilgili virülans faktörlerinin ekspresyonunu düzenlemektedir (114). Sonuç olarak, biyofilm ile ilişkili virülans genlerinin ekspresyonunun çevresel koşullardan etkilendiği düşünülmektedir. Bu bulgu, bakterinin genetik potansiyeline rağmen konak ortamındaki fiziksel faktörlerin virülansın ortaya çıkışında belirleyici olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda, izolatların virülans genlerinin varlığı ile biyofilm oluşturma düzeyleri arasındaki ilişki araştırıldığında, tüm izolatlar arasında orta ve güçlü düzey biyofilm üreticilerinde, zayıf düzey biyofilm üreticilerine kıyasla *zapA*, *atfA*, *pmfA* ve *ucaA* genleri anlamlı olarak daha sık tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Sun ve ark. çalışmasında, *P. mirabilis* izolatlarının %92,5’inde biyofilm üretimi saptanmış ve çalışmamızdaki bulgularla örtüşen şekilde biyofilm üreticilerinde *ureC*, *zapA*, *rsbA*, *mrpA*, *atfA* ve *pmfA* ekspresyonunun anlamlı olarak daha yüksek düzeyde olduğu raporlanmıştır ( $p < 0,05$ ) (115). Chen ve ark., üropatojenik *P. mirabilis* izolatları kullanarak yürüttükleri çalışmalarında, çalışmamıza benzer olarak *zapA* geni silinmiş mutant izolatlarda biyofilm oluşumunun vahşi tip izolatlara göre daha düşük seviyede olduğunu raporlamıştır. Bu çalışmada, ZapA proteininin Tip 1 sekresyon sistemi (T1SS) aracılığı ile salgılanan serralizin metalloproteaz ailesine ait bir protein olduğu ve T1SS’nin yalnızca protein sekresyonunda değil, aynı zamanda biyofilm matriksinin ana bileşeni olan EPS sentezi ve bakteriyel ekstraselüler DNA salınımında da rol oynadığı ortaya konmuştur (116). Phan ve ark. ise, bu çalışmalardan farklı olarak prostatit modelinde vahşi tip ve mutant ZapA-*P. mirabilis* izolatlarının biyofilm oluşturma kapasitlerinin *in vitro* koşullarda benzer olduğunu, fakat bu sonucun prostat dokusundaki biyofilm oluşumu açısından olası farklılıkları dışlamadığını belirtmiştir (117). Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, ZapA proteininin dahil olduğu T1SS aracılığıyla biyofilm matriksinin yapısal bileşenlerinin salgılanması, bu genin biyofilm oluşumunda önemli bir rol alabileceğini desteklemektedir. Ancak bu rolün, enfeksiyonun olduğu dokuya özgü koşullara bağlı

olarak farklılık gösterebileceği ve çevresel faktörlerin bu süreçte belirleyici olabileceği düşünülmektedir. Bu durum, biyofilm oluşum mekanizmalarının yalnızca genetik düzeyde değil, aynı zamanda çevresel sinyallerle etkileşim halinde işleyen çok yönlü ve karmaşık bir süreç olduğunu ortaya koymaktadır.

Fimbriyal adezinlerin bakterinin yüzeylere tutunmasını sağlayarak biyofilm oluşum sürecinde temel bir görev üstlendiği literatürdeki çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Mishu ve ark. çalışmamıza benzer şekilde biyofilm üreten *P. mirabilis* izolatlarının %68,97'sinin *ucaA* genine sahip olduğunu ve bu oranın biyofilm üretmeyen izolatlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu raporlamıştır ( $p < 0,05$ ). Bu çalışmada ayrıca, biyofilm üreten 29 izolatın 14'ünde *atfA* ve 10'unda *pmfA* pozitifliği saptandığı belirtilmiştir (69). Scavone ve ark. çalışmasında ise, *P. mirabilis* vahşi tip izolatı ve fimbriyal genleri eksprese edemeyen izojenik mutantları kullanılarak MR/P, UCA, ATF ve PMF fimbriyalarının biyofilm oluşumu, “swarming” hareketi ve kateter boyunca göç hareketi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada tüm mutantların kateter üzerindeki göç yeteneklerinin belirgin şekilde azaldığını fakat “swarming” hareketlerinin etkilenmediği raporlanmıştır. Buna bağlı olarak bütün fimbriyaların, *P. mirabilis*'in yüzeylere tutunup yayılmasını sağlayarak biyofilm oluşumunda ve kateter kolonizasyonunda kritik bir rol oynadığını doğrulamışlardır. Bununla beraber, MR/P ve ATF mutantların vahşi tip izolatlara kıyasla anlamlı olarak üç boyutlu düzlemde daha küçük boyutta, UCA ve PMF mutantların ise anlamlı olarak daha büyük boyutta biyofilm oluşturduklarını raporlamışlardır ( $p < 0,05$ ). UCA ve PMF için elde edilen verilere göre, bu fimbriyaların stabil ve fonksiyonel biyofilm oluşumunun kontrolünde rol oynadıklarını ve biyo-filmin yapısal bütünlüğüne katkıda bulduklarını belirtmişlerdir (118). ATF için eski çalışmalarda fimbriyanın optimal ekspresyon sıcaklığının 23°C olduğu ve *P. mirabilis* patogenezinde rol almadığı, bu fimbriyanın daha çok enterik ortamda ve çevresel koşullarda hayatta kalmada rol oynadığı raporlanmış olsa da yürütülen yeni çalışmalar ile bu fimbriyanın biyofilm oluşumunda önemli bir rolü olduğu ortaya konmuştur (107,118,119). Bu veriler ışığında, fimbriyal adezinlerin yalnızca biyofilm oluşumunun başlatılmasında değil, aynı zamanda biyo-filmin stabilizasyonu ve yapısal bütünlüğünün

sağlanmasında önemli bir rol oynadığı ve farklı fimbriya tiplerinin birbirini tamamlayan işlevler ile patogeneze katkıda bulunduğu anlaşılmaktadır.

Çalışmamızda orta ve güçlü düzey biyofilm üreten izolatlarda *flaA*, *rsbA*, *hpmA* ve *ireA* genlerinin pozitiflik oranları, zayıf biyofilm üreticilerine kıyasla daha yüksek saptanmış, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmamıştır ( $p>0,05$ ). Biyofilm oluşumunda flagella ve “swarming” hareketinin rolü literatürde net bir şekilde ortaya konulamamış olup bu konuda farklı görüşler mevcuttur. Bazı çalışmalar, flagella varlığının biyofilm yapısı için önemli olduğunu ve farklı yüzeyler ile ilk temasa katkıda bulunabileceğini öne sürerken, diğerleri bu yapıların biyofilm oluşumu için kritik olmadığını, *flaA* gen delesyonu olan hareketsiz mutantların da biyofilm oluşturabildiğini ve bu mutantlarda biyofilmi başlatan mikrokolonilerin oluşma olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmektedir (40,120). Ayrıca, “swarming” hareketini düzenleyen *rsbA*'nın biyofilm oluşumunu desteklediği ve EPS üretimini aktive ettiği bildirilmektedir. Ancak, *rsbA*'nın bu farklı düzenleyici rollerini nasıl gerçekleştirdiğine dair etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (104). “Swarming” hareketi sırasında ekspresyonu arttığı bilinen *hpmA* hemolizin için ise Mishu ve ark., biyofilm üreten *P. mirabilis* izolatlarında %79,31 oranında *hpmA* pozitifliği saptamış ve çalışmamıza benzer şekilde biyofilm üreten ve üretmeyen izolatlar arasında *hpmA* geni varlığı açısından anlamlı bir fark tespit etmemiştir ( $p>0,05$ ) (69). Sun ve ark. ise *P. mirabilis* izolatlarında biyofilm üretiminin *hpmA* ekspresyonu ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu raporlamıştır ( $p<0,05$ ) (115). Bu bulgular, *hpmA* geninin biyofilm oluşum sürecinde rol oynayabileceğini düşündürmekle birlikte farklı çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçlar, bu ilişkinin gen ekspresyon düzeyi, çevresel koşullar ve enfeksiyonun gerçekleştiği doku gibi bir çok faktörün etkileşimiyle şekillendiğini göstermektedir.

*Proteus mirabilis*, sahip olduğu siderofor sistemleri ile demir kısıtlı ortamlarda da enfeksiyona sebep olabilmektedir. Demir alım sistemlerinin biyofilm oluşumundaki rolü ile ilgili yapılan çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, ferri-siderofor yapısının bağlandığı TonB-bağımlı reseptörleri mutasyona uğramış izolatların biyofilm gelişiminin erken evrelerinde yüzeylere yapışma gösteremediği ve stabil bir biyofilm yapısı oluşturamadığı raporlanmıştır. Ayrıca, bu izolatların “swarming” hareket kabiliyetinin etkilendiği ve

kateter ile ilişkili İYE modellerinde üriner sistemi kolonize edemediği bildirilmiştir. Bu doğrultuda, biyofilm gelişimi ve enfeksiyonun ilerlemesini önlemek amacıyla kateterlerin şelatörler ile kaplanması gibi yöntemler geliştirilmekle birlikte klinik uygulanabilirlik için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (121).

Biyofilm yapısının %90'ını oluşturan heterojen polimerik matris yapısının, antimikrobiyal ajanlara ve konakçı bağışıklık sistemine karşı koruma sağladığı bilinmektedir (4). Biyofilm yapısı içinde yer alan yerleşik bakterilerin, serbest yaşayan bakterilere kıyasla antimikrobiyal ajanlara karşı 1000 kat daha yüksek direnç gösterdiği raporlanmaktadır. Biyofilm, hastane kaynaklı enfeksiyonların %65'inin başlıca nedeni olarak kabul edilmekte ve bu yüksek direnç oranları enfeksiyonların klinik yönetimini oldukça karmaşık hale getirmektedir (122). Çalışmamızda elde edilen bulgular da bu bilgileri destekler niteliktedir. Orta ve güçlü düzey biyofilm üreten izolatlarda, meropenem hariç test edilen bütün antibiyotiklere karşı daha yüksek direnç oranları saptanmıştır. Özellikle siprofloksasin ve TMP-SXT direnci açısından, orta ve güçlü düzey biyofilm üreten izolatlar ile zayıf biyofilm üreticileri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Mishu ve ark. çalışmasında, çalışmamızla paralel olarak biyofilm üreten *P. mirabilis* izolatlarında sefepim, siprofloksasin, aztreonam ve tigesiklin direncinin, biyofilm üretmeyen izolatlara kıyasla anlamlı olarak daha fazla olduğu raporlanmıştır ( $p<0,05$ ) (69). Singh ve ark., yanık yarası enfeksiyonlarından elde edilen *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp. ve *Proteus* spp. izolatlarının %56,81'inin biyofilm ürettiğini, biyofilm üretenlerin %48'inin üç veya daha çok antibiyotik kategorisinden en az bir antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu ve biyofilm yapısının antibiyotiklerin hücre içine alımını engelleyerek prognozu kötüleştirdiğini belirtmişlerdir (123). Sun ve ark. ise, ilginç olarak diyaretik hayvanlardan elde edilen *P. mirabilis* izolatlarında biyofilm üreticilerinin doksisisiklin, tetrasiklin, sülfametoksazol, kanamisin ve sefalotin antibiyotiklerine karşı biyofilm üretmeyen izolatlara kıyasla anlamlı olarak daha dirençli olduğunu raporlamıştır. ( $p<0,05$ ) Bu sonuç, dirençli patojenlerin yayılımını engellemek ve insan sağlığının korunması açısından hayvanlarda da antimikrobiyal ajan kullanımının kontrol altına alınması ve biyofilm üretimine karşı tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (115).

Biyofilm üreten izolatlarda gözlemlenen yüksek direnç oranları, enfeksiyonun kronikleşme eğilimini arttırmakta ve standart antimikrobiyal tedavi yaklaşımlarını yetersiz kılmaktadır. Bu nedenle, biyofilm yapısının oluşturduğu koruyucu bariyeri aşmaya yönelik alternatif ve hedefe yönelik stratejilerin geliştirilmesi, klinik başarı açısından büyük önem taşımaktadır.

Elde ettiğimiz veriler, yara yeri ve kateter ile ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarında biyofilm oluşumunun direnç gelişimi ve enfeksiyonun inatçı seyri üzerinde belirleyici bir etkisi olduğunu göstermektedir. Hurlow ve ark. 2025 yılında yürüttükleri çalışmalarında, biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların dünya genelinde yaklaşık 386 milyar dolar sağlık maliyetine neden olduğunu ve özellikle yara yeri enfeksiyonlarında önemli bir sağlık problemi oluşturduğunu raporlamıştır (124). Bu nedenle, biyofilm oluşumunu hedefleyen hızlı ve etkili yaklaşımların benimsenmesi, enfeksiyonların hızla kontrol altına alınmasını sağlamak, tedaviye direnç gelişimini önlemek ve iyileşmeyi hızlandırmak için kritik öneme sahiptir. Biyofilm ile ilişkili yara yeri enfeksiyonlarının tedavisine yönelik, 2000'lerin başlarından itibaren debridman ve antimikrobiyal tedavi adımlarını içeren biyofilm tabanlı yara bakımı stratejileri geliştirilmiş ve birçok bölgede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (124). Özellikle yara iyileşmesi durakladığında biyofilm varlığı düşünülmeli ve biyofilm yönetiminde altın standart olarak kabul edilen debridman ile biyofilm yapısı parçalanmalı, böylece bakteriler antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlı hale getirilmelidir. Debridman dışında, gaza enerji verilerek oluşturulan reaktif oksijen türleri ile biyofilm parçalayabilen non-termal plazma yöntemi, spesifik dalga boyundaki ışıkla aktif olan özel boyaların reaktif oksijen türleri üreterek yüzeysel enfeksiyonlara karşı kullanıldığı fotodinamik terapi, yara pansumanında kullanılan ve antimikrobiyal etki gösteren gümüş nanopartiküller, lipofilik yapısı sayesinde biyofilm yapısına nüfuz edebilen iyot, yara pansumanlarında, kateterlerde ve ortopedik cihazlarda kullanılabilen furanon gibi “quorum sensing” inhibitörleri, antimikrobiyal etkili manuka balı ve faj tedavisi gibi çeşitli yöntemler biyofilmle mücadelede ümit verici sonuçlar ortaya koymaktadır (125).

Kateter ile ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarında ise, kateter takılması ve bakımına yönelik kurallara sıkı bir şekilde uyulsa bile 96 saatten uzun süre kateteri olan hastaların

%48’inde enfeksiyon gelişebildiği raporlanmaktadır (126). Dünya Sağlık Örgütü, sistemik profilaktik antibiyotiklerin, steril drenaj torbalarının, mesane irrigasyonu ve antibiyotik infüzyonunun bu enfeksiyonları önleyemediğini belirtmiştir (127). Bu nedenle, söz konusu hastalarda biyofilm oluşumunu engelleyebilmeye yönelik olarak; kateterlerin antibiyotik, MgF<sub>2</sub>, CaO ve gümüş nanopartiküller gibi antimikrobiyal etki gösteren maddeler ile kaplanması, yüzey kayganlığını arttıran ve bakteri adezyonunu önleyen hidrojel ilave edilmesi, bu kaplamaların biyofilm yapısına nüfuz edebilen iyot ile kombinasyonu, faj tedavisi, virülans faktörlerinin üretimini engelleyen “quorum sensing” inhibitörleri, düşük enerjili elektrik akımı ve yüzey akustik dalgalarının uygulanması gibi çeşitli yöntemler ön plana çıkmaktadır (126). Bu stratejiler, biyofilm temelli enfeksiyonların kontrolünde, standart tedavi yöntemlerine kıyasla hedefe yönelik ve başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlayabilecek niteliktedir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamıza dahil olan *P. mirabilis* izolatlarının %53,9'u idrar, %46,1'i ise yara kültürlerinden izole edilmiştir. İzolatların %72,3'ü 16 yaş ve üzeri bireylerden elde edilmiştir. İYE olan hastaların %65,8'i kadın, yara yeri enfeksiyonu olan hastaların ise %65,71'i erkek cinsiyettedir.
2. İdrar izolatlarında %43,9 oranında TMP-SXT, %34,1 oranında ampisilin, %22 oranında siprofloksasin, %14,6 oranında amoksisilin-klavulanat, %9,8 oranında sefuroksim, %4,9 oranında seftriakson, %2,4 oranında seftazidim ve sefepim direnci tespit edilmiştir. Tüm idrar izolatları piperasilin-tazobaktam, ertapenem, meropenem ve amikasinine karşı duyarlı tespit edilmiştir.
3. Yara izolatlarında %65,7 oranında TMP-SXT, %62,9 oranında ampisilin, %57,1 oranında siprofloksasin, %34,3 oranında amoksisilin-klavulanat, %25,7 oranında sefuroksim ve seftriakson, %17,1 oranında sefepim, %14,3 oranında seftazidim, %8,6 oranında ertapenem ve amikasin, %2,9 oranında piperasilin-tazobaktam direnci tespit edilmiştir. Hiçbir yara izolatında meropenem direnci tespit edilmemiştir. Yara izolatlarında ampisilin, amoksisilin-klavulanat, seftriakson, sefepim ve siprofloksasine karşı direnç, idrar izolatlarına göre anlamlı olarak daha yüksek tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).
4. Çalışmamızda idrar ve yara izolatlarında sırasıyla %85,4 ve %85,7 oranında *ireA*, %92,7 ve %91,4 oranında *zapA*, %100 ve %97,1 oranında *flaA* ve *rsbA*, %87,8 ve %88,6 oranında *atfA*, %97,6 ve %85,7 oranında *pmfA*, %75,6 ve %88,6 oranında *ucaA*, %95,1 ve %94,3 oranında *hpmA* geni pozitif saptanmıştır. Tüm izolatlarda *ureC* geni pozitif saptanmıştır. İdrar ve yara izolatları arasında virülans genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ).
5. Karbapenemlere duyarlı ve orta duyarlı izolatlarda *rsbA* geni, TMP-SXT dirençli izolatlarda ise *pmfA* ve *hpmA* geni anlamlı olarak daha sık tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

6. İdrar ve yara izolatlarının sırasıyla %58,5 ve %45,7 oranında zayıf, %36,6 ve %20 oranında orta ve %4,9 ve %34,3 oranında güçlü düzeyde biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. Yara izolatlarının idrar izolatlarına göre anlamlı olarak daha güçlü düzeyde biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir (p=0,004)
7. İdrar yolu enfeksiyonu olan hastalardan kateterize edilmeyen (%75,6) ve kateterize edilen (%24,4) hastaların izolatlarında sırasıyla %71 ve %20 oranında zayıf, %25,8 ve %70 oranında orta, %3,2 ve %10 oranında güçlü düzey biyofilm üretimi tespit edilmiştir. Kateterize edilen hastaların izolatlarında, edilmeyen hasta izolatlarına göre anlamlı olarak daha güçlü düzeyde biyofilm üretimi saptanmıştır (p=0,006).
8. Orta-güçlü düzey biyofilm üreten izolatlarda, *zapA*, *atfA*, *pmfA* ve *ucaA* genleri zayıf düzey biyofilm üreticilerine göre anlamlı olarak daha sık tespit edilmiştir (p<0,05). *flaA*, *rsbA*, *hpmA* ve *ireA* genlerinin varlığı açısından orta-güçlü düzey biyofilm üreticileri ile zayıf düzey biyofilm üreticileri arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (p>0,05).
9. Orta-güçlü düzey biyofilm üreticilerinde siprofloksasin ve TMP-SXT'ye karşı direnç, zayıf düzey biyofilm üreticilerine göre anlamlı olarak daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir (p<0,05)
10. *P. mirabilis* izolatlarında ampirik tedavide yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı olan direnç hızla artmakta ve tedavi seçenekleri giderek kısıtlanmaktadır. Bu nedenle, güncel antibiyotik duyarlılık profillerine dayalı ampirik tedavi politikalarının benimsenmesi ve akılcı antibiyotik kullanımı politikalarının teşvik edilmesi büyük önem taşımaktadır.
11. *P. mirabilis*'te virülans genlerinin biyofilm üretimine bağımlı ya da bağımsız olarak antibiyotik direncine katkısı ve çevresel sinyallere bağlı gen ekspresyonlarındaki değişiklikleri aydınlatan mekanizmaların daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılabilmesi için ek araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu sayede, biyofilm oluşumunu engellemeye yönelik yeni tedavi stratejileri geliştirilebilecektir.

12. *P. mirabilis*'e bağlı yara enfeksiyonlarında biyofilm oluşumu, göz ardı edilemeyecek derecede güçlü ve etkili bir patojenik mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum, antibiyotik direncindeki artışa ve enfeksiyonların kronikleşmesine yol açmaktadır. Yara enfeksiyonlarının yönetiminde biyofilm oluşumunu engellemeye yönelik tedavi yaklaşımlarının ön planda tutulması, enfeksiyonların etkin bir şekilde kontrol altına alınabilmesi için kritik bir önem taşımaktadır.
13. İdrar yolu kateterizasyonu uygulanmış hastalarda, *P. mirabilis*'e bağlı İYE'ler biyofilm oluşumu nedeniyle karmaşık hale gelebilmektedir. Bu nedenle, kateter kullanım süresi mümkün olan en kısa süre ile sınırlandırılmalı ve uygulama işlemleri sırasında steriliteye titizlikle uyulmalıdır.
14. Çalışmamızda izolatların biyofilm oluşturma kapasiteleri, virülans genlerinin varlığına dayalı epidemiyolojik tamamlayıcı veriler ile sunulmuştur. Ancak, sadece sınırlı sayıda virülans geni ve antibiyotik test edilmiştir. Gelecek çalışmalarda daha fazla virülans geninin ve antibiyotiklerin çalışmalara dahil edilmesi önerilmektedir. Ayrıca, daha geniş bir hasta popülasyonu üzerinde yürütülecek çalışmalar daha kapsamlı bir analize olanak tanıyacaktır. Böylece *P. mirabilis* izolatlarında virülans faktörleri, biyofilm oluşumu ve direnç arasındaki ilişki daha kapsamlı bir şekilde anlaşılacaktır.
15. Çalışmamızda sadece virülans genlerinin varlığı tespit edilmiştir. Ancak, virülans genlerinin farklı çevresel koşullardaki ekspresyon düzeylerinin incelenmesi için moleküler düzeyde daha fazla analiz yapılması gerekmektedir. Bu tür analizler, biyofilm oluşumunu etkileyen genetik ve çevresel faktörlerin daha net bir şekilde belirlenmesini sağlayacaktır.
16. Virülans genleri ve biyofilm yapısının etkileşim mekanizmalarını anlamak, tedavi yaklaşımlarını daha hedefe yönelik hale getirebilmektedir. Bu alanda biyofilm oluşumunu engelleme stratejilerinin etkinliğini test etmek için preklinik modellerde daha fazla araştırılma yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Fusco A, Coretti L, Savio V, Buommino E, Lembo F, Donnarumma G. Biofilm Formation and Immunomodulatory Activity of *Proteus mirabilis* Clinically Isolated Strains. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 15;18(2):414.
2. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004 Feb;2(2):95–108.
3. Wasfi R, Hamed SM, Amer MA, Fahmy LI. *Proteus mirabilis* Biofilm: Development and Therapeutic Strategies. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Aug 14;10.
4. Gmitter D, Kaca W. Into the understanding the multicellular lifestyle of *Proteus mirabilis* on solid surfaces. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 Sep 2;12.
5. Sellaturay S, Nair R, Dickinson I, Sriprasas S. *Proteus*: Mythology to modern times. *Indian Journal of Urology*. 2012;28(4):388.
6. Tibbles JA, Cohen MM. The *Proteus* syndrome: the Elephant Man diagnosed. *BMJ*. 1986 Sep 13;293(6548):683–5.
7. O’Hara CM, Brenner FW, Miller JM. Classification, Identification, and Clinical Significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin Microbiol Rev*. 2000 Oct 1;13(4):534–46.
8. Girlich D, Bonnin RA, Dortet L, Naas T. Genetics of Acquired Antibiotic Resistance Genes in *Proteus* spp. *Front Microbiol*. 2020 Feb 21;11.
9. Hyun DW, Jung MJ, Kim MS, Shin NR, Kim PS, Whon TW, et al. *Proteus cibarius* sp. nov., a swarming bacterium from Jeotgal, a traditional Korean fermented seafood, and emended description of the genus *Proteus*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016 Jun 10;66(6):2158–64.
10. Behrendt U, Augustin J, Spröer C, Gelbrecht J, Schumann P, Ulrich A. Taxonomic characterisation of *Proteus terrae* sp. nov., a N<sub>2</sub>O-producing, nitrate-ammonifying soil bacterium. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2015 Dec 5;108(6):1457–68.
11. Dai H, Chen A, Wang Y, Lu B, Wang Y, Chen J, et al. *Proteus faecis* sp. nov., and *Proteus cibi* sp. nov., two new species isolated from food and clinical samples in China. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2019 Mar 1;69(3):852–8.
12. Dai H, Wang Y, Fang Y, Xiao T, Huang Z, Kan B, et al. *Proteus columbae* sp. nov., isolated from a pigeon in Ma’anshan, China. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2018 Feb 1;68(2):552–7.
13. Dai H, Wang Y, Fang Y, Huang Z, Kan B, Wang D. *Proteus alimentorum* sp. nov., isolated from pork and lobster in Ma’anshan city, China. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2018 Apr 1;68(4):1390–5.
14. Wang Y, Pan X. Bacteria: *Proteus*. In: *Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier; 2014. p. 486–9.
15. Chakkour M, Hammoud Z, Farhat S, El Roz A, Ezzeddine Z, Ghssein G. Overview of *Proteus mirabilis* pathogenicity and virulence. Insights into the role of metals. *Front Microbiol*. 2024 Apr 5;15.
16. Lubart E, Segal R, Haimov E, Dan M, Baumochl Y, Leibovitz A. Bacteremia in a Multilevel Geriatric Hospital. *J Am Med Dir Assoc*. 2011 Mar;12(3):204–7.
17. Morris NS, Stickler DJ, McLean RJC. The development of bacterial biofilms on indwelling urethral catheters. *World J Urol*. 1999 Dec 14;17(6):345–50.
18. Prywer J, Olszynski M. Bacterially Induced Formation of Infectious Urinary Stones: Recent Developments and Future Challenges. *Curr Med Chem*. 2017 Feb 9;24(3):292–311.
19. Brook I. Microbiology and management of soft tissue and muscle infections. *International Journal of Surgery*. 2008 Aug;6(4):328–38.
20. Mistry RD, Scott HF, Alpern ER, Zaoutis TE. Prevalence of *Proteus mirabilis* in Skin Abscesses of the Axilla. *J Pediatr*. 2010 May;156(5):850–1.
21. Yeika EV, Foryoung JB, Efié DT, Nkwetateba EA, Tolefac PN, Ngowe MN. Multidrug resistant *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* causing fulminant necrotising fasciitis: a case report. *BMC Res Notes*. 2018 Dec 21;11(1):322.
22. Zafar U, Taj MK, Nawaz I, Zafar A, Taj I. Characterization of *Proteus mirabilis* Isolated from Patient Wounds at Bolan Medical Complex Hospital, Quetta. *Jundishapur J Microbiol*. 2019 Jul 23;12(7).

23. Khayyat AN, Abbas HA, Mohamed MFA, Asfour HZ, Khayat MT, Ibrahim TS, et al. Not Only Antimicrobial: Metronidazole Mitigates the Virulence of *Proteus mirabilis* Isolated from Macerated Diabetic Foot Ulcer. *Applied Sciences*. 2021 Jul 26;11(15):6847.
24. ullah S, Saadaat R, Hamidi H, Haidary AM. *Proteus mirabilis*: A rare cause of pneumonia, radiologically mimicking malignancy of the lung. *Clin Case Rep*. 2023 Sep 19;11(9).
25. Costa Filho FF, Furlan A, Avner BS. Spontaneous *Proteus mirabilis* Meningitis in Adults Requiring an Extended Antibiotic Course: Case Report and Literature Review. *Cureus*. 2023 May 19;
26. Duarte MJ, Kozin ED, Barshak MB, Reinshagen K, Knoll RM, Abdullah KG, et al. Otogenic brain abscesses: A systematic review. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*. 2018 Jun 25;3(3):198–208.
27. Hamilton AL, Kamm MA, Ng SC, Morrison M. *Proteus* spp. as Putative Gastrointestinal Pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2018 Jul;31(3).
28. McNally JN, Bruckner A. An Unusual Case of *Proteus mirabilis*-Induced Severe Contiguous Bacterial Osteomyelitis in an Elderly Nursing Home Resident: A Case Report. *Cureus*. 2024 Apr 6;
29. Chiang MH, Lee MH, Liu YC, Lee CH. *Proteus mirabilis* thoracic vertebral osteomyelitis: a case report. *J Med Case Rep*. 2021 Dec 28;15(1):274.
30. Borgman CJ. *Proteus mirabilis* and Its Role in Dacryocystitis. *Optometry and Vision Science*. 2014 Sep;91(9):e230–5.
31. Li X, Zhao H, Lockatell CV, Drachenberg CB, Johnson DE, Mobley HLT. Visualization of *Proteus mirabilis* within the Matrix of Urease-Induced Bladder Stones during Experimental Urinary Tract Infection. *Infect Immun*. 2002 Jan;70(1):389–94.
32. Dattelbaum JD, Lockatell CV, Johnson DE, Mobley HLT. *UreR*, the Transcriptional Activator of the *Proteus mirabilis* Urease Gene Cluster, Is Required for Urease Activity and Virulence in Experimental Urinary Tract Infections. *Infect Immun*. 2003 Feb;71(2):1026–30.
33. Belas R, Schneider R, Melch M. Characterization of *Proteus mirabilis* Precocious Swarming Mutants: Identification of *rsbA*, Encoding a Regulator of Swarming Behavior. *J Bacteriol*. 1998 Dec;180(23):6126–39.
34. Pearson MM, Rasko DA, Smith SN, Mobley HLT. Transcriptome of Swarming *Proteus mirabilis*. *Infect Immun*. 2010 Jun;78(6):2834–45.
35. Morgenstein RM, Szostek B, Rather PN. Regulation of gene expression during swarmer cell differentiation in *Proteus mirabilis*. *FEMS Microbiol Rev*. 2010 Sep;34(5):753–63.
36. Belas R. Expression of multiple flagellin-encoding genes of *Proteus mirabilis*. *J Bacteriol*. 1994 Dec;176(23):7169–81.
37. Dumanski AJ, Hedelin H, Edin-Liljegren A, Beauchemin D, McLean RJ. Unique ability of the *Proteus mirabilis* capsule to enhance mineral growth in infectious urinary calculi. *Infect Immun*. 1994 Jul;62(7):2998–3003.
38. Hay NA, Tipper DJ, Gygi D, Hughes C. A Novel Membrane Protein Influencing Cell Shape and Multicellular Swarming of *Proteus mirabilis*. *J Bacteriol*. 1999 Apr;181(7):2008–16.
39. Aquilini E, Azevedo J, Jimenez N, Bouamama L, Tomás JM, Regué M. Functional Identification of the *Proteus mirabilis* Core Lipopolysaccharide Biosynthesis Genes. *J Bacteriol*. 2010 Sep;192(17):4413–24.
40. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HLT, Shirtliff ME. Complicated Catheter-Associated Urinary Tract Infections Due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin Microbiol Rev*. 2008 Jan;21(1):26–59.
41. Pearson MM, Sebahia M, Churcher C, Quail MA, Seshasayee AS, Luscombe NM, et al. Complete Genome Sequence of Uropathogenic *Proteus mirabilis*, a Master of both Adherence and Motility. *J Bacteriol*. 2008 Jun;190(11):4027–37.
42. Belas R, Manos J, Suvanasuthi R. *Proteus mirabilis* ZapA Metalloprotease Degrades a Broad Spectrum of Substrates, Including Antimicrobial Peptides. *Infect Immun*. 2004 Sep;72(9):5159–67.
43. Wassif C, Cheek D, Belas R. Molecular analysis of a metalloprotease from *Proteus mirabilis*. *J Bacteriol*. 1995 Oct;177(20):5790–8.
44. Cestari SE, Ludovico MS, Martins FH, da Rocha SPD, Elias WP, Pelayo JS. Molecular Detection of *HpmA* and *HlyA* Hemolysin of Uropathogenic *Proteus mirabilis*. *Curr Microbiol*. 2013 Dec 25;67(6):703–7.

45. Alqurashi E, Elbanna K, Ahmad I, Abulreesh HH. Antibiotic Resistance in *Proteus mirabilis*: Mechanism, Status, and Public Health Significance. *J Pure Appl Microbiol.* 2022 Sep 1;16(3):1550–61.
46. Siebor E, Neuwirth C. *Proteus* genomic island 1 (PGI1), a new resistance genomic island from two *Proteus mirabilis* French clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2014 Dec 1;69(12):3216–20.
47. Hafiz T, Alghamdi G, Alkudmani Z, Alyami A, AlMazyed A, Alhumaidan O, et al. Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* Infections and Clinical Outcome at Tertiary Hospital in Riyadh, Saudi Arabia. *Infect Drug Resist.* 2024 Feb;Volume 17:571–81.
48. van Dijk K, Voets GM, Scharringa J, Voskuil S, Fluit AC, Rottier WC, et al. A disc diffusion assay for detection of class A, B and OXA-48 carbapenemases in Enterobacteriaceae using phenyl boronic acid, dipicolinic acid and temocillin. *Clinical Microbiology and Infection.* 2014 Apr;20(4):345–9.
49. Hall-Stoodley L, Stoodley P, Kathju S, Høiby N, Moser C, William Costerton J, et al. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012 Jul;65(2):127–45.
50. Zobell CE. The Effect of Solid Surfaces upon Bacterial Activity. *J Bacteriol.* 1943 Jul;46(1):39–56.
51. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M, et al. Bacterial Biofilms in Nature and Disease. *Annu Rev Microbiol.* 1987 Oct;41(1):435–64.
52. Sharma S, Mohler J, Mahajan SD, Schwartz SA, Bruggemann L, Aalinkeel R. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms.* 2023 Jun 19;11(6):1614.
53. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol.* 2010 Sep 2;8(9):623–33.
54. Luo A, Wang F, Sun D, Liu X, Xin B. Formation, Development, and Cross-Species Interactions in Biofilms. *Front Microbiol.* 2022 Jan 4;12.
55. Gupta P, Sarkar S, Das B, Bhattacharjee S, Tribedi P. Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall: a review. *Arch Microbiol.* 2016 Jan 16;198(1):1–15.
56. Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, et al. Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association.* 2018 Jan;81(1):7–11.
57. Jacobsen SM, Shirtliff ME. *Proteus mirabilis* biofilms and catheter-associated urinary tract infections. *Virulence.* 2011 Sep 27;2(5):460–5.
58. Zhao G, Usui ML, Lippman SI, James GA, Stewart PS, Fleckman P, et al. Biofilms and Inflammation in Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2013 Sep;2(7):389–99.
59. Majtan J, Bohova J, Horniackova M, Klaudiny J, Majtan V. Anti-biofilm Effects of Honey Against Wound Pathogens *Proteus mirabilis* and *Enterobacter cloacae*. *Phytotherapy Research.* 2014 Jan 11;28(1):69–75.
60. Kwiecińska-Piróg J, Przekwas J, Majkut M, Skowron K, Gospodarek-Komkowska E. Biofilm Formation Reducing Properties of Manuka Honey and Propolis in *Proteus mirabilis* Rods Isolated from Chronic Wounds. *Microorganisms.* 2020 Nov 19;8(11):1823.
61. Singh S, Singh SK, Chowdhury I, Singh R. Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. *Open Microbiol J.* 2017 Apr 28;11(1):53–62.
62. Miller MB, Bassler BL. Quorum Sensing in Bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2001 Oct;55(1):165–99.
63. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, 2025. Available at: <https://www.eucast.org>.
64. Merritt JH, Kadouri DE, O'Toole GA. Growing and Analyzing Static Biofilms. *Curr Protoc Microbiol.* 2006 Feb 15;00(1).
65. Kowalska J, Maćkiw E, Stasiak M, Kucharek K, Postupolski J. Biofilm-Forming Ability of Pathogenic Bacteria Isolated from Retail Food in Poland. *J Food Prot.* 2020 Dec;83(12):2032–40.
66. Pathirana HNKS, De Silva BCJ, Wimalasena SHMP, Hossain S, Heo GJ. Comparison of virulence genes in *Proteus* species isolated from human and pet turtle. *Iran J Vet Res.* 2018;19(1):48–52.
67. Sanches MS, Baptista AAS, de Souza M, Menck-Costa MF, Koga VL, Kobayashi RKT, et al. Genotypic and phenotypic profiles of virulence factors and antimicrobial resistance of *Proteus mirabilis* isolated from chicken carcasses: potential zoonotic risk. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2019 Jul 3;50(3):685–94.

68. AL-Dulaimy IM, Saleem AJ, Al-Taai HRR. Detection of flaA, fliC, mrpA and rsbA Gene in proteus mirabilis Multidrug Resistance Isolated from Different Clinical Sources in Baquba City. Egypt J Hosp Med. 2023 Jan 1;90(2):2831–8.
69. Jabin Mishu N, SM S, HM K, Nabonee MA, zannat dola N, haque A. Association between Biofilm Formation and Virulence Genes Expression and Antibiotic Resistance Pattern in Proteus mirabilis, Isolated from Patients of Dhaka Medical College Hospital. Arch Clin Biomed Res. 2022;06(03).
70. Armbruster CE, Mobley HLT, Pearson MM. Pathogenesis of Proteus mirabilis Infection. EcoSal Plus. 2018 Dec 31;8(1).
71. Rabello Sergio F, Caldas Santos N, Andrade Silveira I, Barreto Pires BMF, Cavalcanti Valente GL, Arneiro Teixeira L, et al. Does pH Influence the Bacterial Profile of Chronic Lesions? An Analysis of Venous Ulcer Samples. Adv Skin Wound Care. 2022 Jan;35(1):30–6.
72. Roy S, Mukherjee P, Kundu S, Majumder D, Raychaudhuri V, Choudhury L. Microbial infections in burn patients. Acute and Critical Care. 2024 May 31;39(2):214–25.
73. Liu CH, Chang WJ, Chin C. An Unusual Cause of Infective Endocarditis: Proteus mirabilis Bacteremia from an Infected Pressure Ulcer. Int J Gerontol. 2015 Dec;9(4):243–5.
74. Saravanakumar R, Devi PMB. Surgical site infection in a tertiary care centre-an overview - A cross sectional study. International Journal of Surgery Open. 2019;21:12–6.
75. Bowler PG. Antibiotic resistance and biofilm tolerance: a combined threat in the treatment of chronic infections. J Wound Care. 2018 May 2;27(5):273–7.
76. Olson ME, Ceri H, Morck DW, Buret AG, Read RR. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. Can J Vet Res. 2002 Apr;66(2):86–92.
77. M. Tom I, B. Agbo E, A. Faruk U, M. Umoru A, M. Ibrahim M, B. Umar J, et al. Implication of Proteus spp in the Pathology of Nosocomial Wound Infection in Northeastern Nigeria. International Journal of Pathogen Research. 2018 Oct 9;1–8.
78. Chen CY, Chen YH, Lu PL, Lin WR, Chen TC, Lin CY. Proteus mirabilis urinary tract infection and bacteremia: Risk factors, clinical presentation, and outcomes. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2012 Jun;45(3):228–36.
79. DEĞİRMENCİ H, VURAL S, YALÇIN S. İstanbul'da Bir Özel Hastanede İdrar Yolu Enfeksiyonu Bulunan Hastalardan İzole Edilen Bakteriler ve Antibiyotik Duyarlılık Profillerinin Belirlenmesi. İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2022 Aug 29;(17):426–39.
80. Mo L, Wang J, Qian J, Peng M. Antibiotic Sensitivity of Proteus mirabilis Urinary Tract Infection in Patients with Urinary Calculi. Int J Clin Pract. 2022 Dec 21;2022:1–6.
81. Milletli Sezgin F, Nar R. Evaluation of urinary culture and urinalysis results of pediatric patients prediagnosed with urinary tract infection. Pamukkale Medical Journal. 2017;10(3):242–8.
82. Rank EL, Lodise T, Avery L, Bankert E, Dobson E, Dumyati G, et al. Antimicrobial Susceptibility Trends Observed in Urinary Pathogens Obtained From New York State. Open Forum Infect Dis. 2018 Nov 1;5(11).
83. Morrissey I, Hackel M, Badal R, Bouchillon S, Hawser S, Biedenbach D. A Review of Ten Years of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) from 2002 to 2011. Pharmaceuticals. 2013 Nov 1;6(11):1335–46.
84. Han P. Prevalence, Genetic Diversity and Antimicrobial Resistance of Proteus mirabilis Isolated from Dogs Hospitalized in Beijing. Pak Vet J. 2019;
85. Abbas HA, El-Saysed MA, Ganiny AM, Fattah AA. Antimicrobial Resistance Patterns of Proteus mirabilis isolates from Urinary tract, burn wound and Diabetic foot Infections. Res J Pharm Technol. 2018;11(1):249.
86. Yıldırım AM, Aydoğdu Çarkçı H, Yılmaz M, Aşçı Toraman Z. YANIK VE YARA ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMA TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ VE ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI. Kocatepe Tıp Dergisi. 2019 Feb 25;20(1):26–32.
87. Gürbüz M, Türkekel Şen E, Demir C, Esen B. Inpatient Cumulative Antibiotic Susceptibility Report of Afyonkarahisar Health Sciences University Research and Practice Hospital (2020). Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;
88. Meletis G, Malousi A, Tychala A, Kassomenaki A, Vlachodimou N, Mantzana P, et al. Probable Three-Species In Vivo Transfer of blaNDM-1 in a Single Patient in Greece: Occurrence of NDM-

- 1-Producing *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, and *Morganella morganii*. *Antibiotics*. 2023 Jul 20;12(7):1206.
89. Qin S, Qi H, Zhang Q, Zhao D, Liu ZZ, Tian H, et al. Emergence of Extensively Drug-Resistant *Proteus mirabilis* Harboring a Conjugative NDM-1 Plasmid and a Novel *Salmonella* Genomic Island 1 Variant, SGI1-Z. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Oct;59(10):6601–4.
  90. ElTaweel M, Said HS, Barwa R. Emergence of extensive drug resistance and high prevalence of multidrug resistance among clinical *Proteus mirabilis* isolates in Egypt. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2024 May 24;23(1):46.
  91. EUCAST Guidelines for Detection of Resistance Mechanisms and Specific Resistances of Clinical and/or Epidemiological Importance. Version 2.0, 2017. Available at: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Resistance\\_mechanisms/EUCA\\_ST\\_detection\\_of\\_resistance\\_mechanisms\\_170711.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCA_ST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf).
  92. Liu L, Dong Z, Ai S, Chen S, Dong M, Li Q, et al. Virulence-related factors and antimicrobial resistance in *Proteus mirabilis* isolated from domestic and stray dogs. *Front Microbiol*. 2023 May 10;14.
  93. Phiri RM, Ertuğrul MB, Bozdoğan B, Hoşbul T. Evaluation of virulence genes in *Proteus* strains isolated from diabetic foot infections and urinary tract infections. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2024 Oct 31;18(10):1559–65.
  94. Kadhim I, Lateef L. Molecular detection of some virulence genes of *proteus mirabilis* isolated from different samples in Babylon province /Iraq. *Journal of Complementary Medicine Research*. 2022;13(4):158.
  95. Jones BD, Lockatell C V, Johnson DE, Warren JW, Mobley HL. Construction of a urease-negative mutant of *Proteus mirabilis*: analysis of virulence in a mouse model of ascending urinary tract infection. *Infect Immun*. 1990 Apr;58(4):1120–3.
  96. D’Alessandro B, Lery LMS, Krüger WMA, Lima A, Piccini C, Zunino P. Proteomic analysis of *Proteus mirabilis* outer membrane proteins reveals differential expression in vivo vs. in vitro conditions. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2011 Nov;63(2):174–82.
  97. Himpsl SD, Pearson MM, Arewang CJ, Nusca TD, Sherman DH, Mobley HLT. Proteobactin and a yersiniabactin-related siderophore mediate iron acquisition in *Proteus mirabilis*. *Mol Microbiol*. 2010 Oct 17;78(1):138–57.
  98. Danilo de Oliveira W, Lopes Barboza MG, Faustino G, Yamanaka Inagaki WT, Sanches MS, Takayama Kobayashi RK, et al. Virulence, resistance and clonality of *Proteus mirabilis* isolated from patients with community-acquired urinary tract infection (CA-UTI) in Brazil. *Microb Pathog*. 2021 Mar;152:104642.
  99. Ewaoche IS, Tolulope A, Ibemologi A, Edmund E. UreC and ZapA virulence genes amplification in clinical specimen of *Proteus mirabilis* in Bayelsa state, Nigeria. *J Microbiol Exp*. 2021 Feb 25;9(1):15–20.
  100. Alsaadi LAS, Ali IA, Abbas SA. Molecular analysis of *Proteus mirabilis* virulence genes isolated from urinary tract infections from Baquba teaching hospital. In 2022. p. 020031.
  101. Lila ASA, Rajab AAH, Abdallah MH, Rizvi SMD, Moin A, Khafagy ES, et al. Biofilm Lifestyle in Recurrent Urinary Tract Infections. *Life*. 2023 Jan 4;13(1):148.
  102. Latta RK, Grondin A, Jarrell HC, Nicholls GR, Bérubé LR. Differential Expression of Nonagglutinating Fimbriae and MR/P Pili in Swarming Colonies of *Proteus mirabilis*. *J Bacteriol*. 1999 May 15;181(10):3220–5.
  103. Murphy CA, Belas R. Genomic rearrangements in the flagellin genes of *Proteus mirabilis*. *Mol Microbiol*. 1999 Jan 30;31(2):679–90.
  104. Liaw SJ, Lai HC, Wang WB. Modulation of Swarming and Virulence by Fatty Acids through the RsbA Protein in *Proteus mirabilis*. *Infect Immun*. 2004 Dec;72(12):6836–45.
  105. Zhang K, Liu L, Yang M, Chen C, Li X, Tian J, et al. Reduced porin expression with EnvZ-OmpR, PhoPQ, BaeSR two-component system down-regulation in carbapenem resistance of *Klebsiella pneumoniae* based on proteomic analysis. *Microb Pathog*. 2022 Sep;170:105686.
  106. Dehnavi S, Rahimian Zarif B. RsbA Gene’s Confirmation in *P. Mirabilis* With PCR Method in Patients With Urinary Tract Infection in Province of Qorveh. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 2017 Jun 28;14(2):801–4.

107. Hussein EI, Al-Batayneh K, Masadeh MM, Dahadhah FW, Al Zoubi MS, Aljabali AA, et al. Assessment of Pathogenic Potential, Virulent Genes Profile, and Antibiotic Susceptibility of *Proteus mirabilis* from Urinary Tract Infection. *Int J Microbiol*. 2020 Feb 7;2020:1–5.
108. Ramatla T, Ramaili T, Lekota K, Mileng K, Ndou R, Mphuthi M, et al. Antibiotic resistance and virulence profiles of *Proteus mirabilis* isolated from broiler chickens at abattoir in South Africa. *Vet Med Sci*. 2024 Mar 15;10(2).
109. Motamedi H, Asghari B, Tahmasebi H, Arabestani M. Identification of Hemolysine Genes and their Association with Antimicrobial Resistance Pattern among Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* in West of Iran. *Adv Biomed Res*. 2018;7(1):153.
110. Smith K, Perez A, Ramage G, Lappin D, Gemmell CG, Lang S. Biofilm formation by Scottish clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*. 2008 Aug 1;57(8):1018–23.
111. Wasfi R, El-Rahman OA, Mansour L, Hanora A, Hashem A, Ashour M. Antimicrobial activities against biofilm formed by *Proteus mirabilis* isolates from wound and urinary tract infections. *Indian J Med Microbiol*. 2012 Jan;30(1):76–80.
112. Zhang Q, Zong Q, Feng X, Luo M, Sun W, Zhai Y. Antibacterial and antifouling materials for urinary catheter coatings. *Acta Biomater*. 2025 Jan;192:28–47.
113. Tabatabaei A, Ahmadi K, Namazi Shabestari A, Khosravi N, Badamchi A. Virulence genes and antimicrobial resistance pattern in *Proteus mirabilis* strains isolated from patients attended with urinary infections to Tertiary Hospitals, in Iran. *Afr Health Sci*. 2021 Dec 14;21(4):1677–84.
114. Donlan RM. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerg Infect Dis*. 2002 Sep;8(9):881–90.
115. Sun Y, Wen S, Zhao L, Xia Q, Pan Y, Liu H, et al. Association among biofilm formation, virulence gene expression, and antibiotic resistance in *Proteus mirabilis* isolates from diarrhetic animals in Northeast China. *BMC Vet Res*. 2020 Dec 5;16(1):176.
116. Chen HH, Chang CC, Yuan YH, Liaw SJ. A CpxR-Regulated zapD Gene Involved in Biofilm Formation of Uropathogenic *Proteus mirabilis*. *Infect Immun*. 2020 Jun 22;88(7).
117. Phan V, Belas R, Gilmore BF, Ceri H. ZapA, a Virulence Factor in a Rat Model of *Proteus mirabilis* -Induced Acute and Chronic Prostatitis. *Infect Immun*. 2008 Nov;76(11):4859–64.
118. Scavone P, Iribarnegaray V, Caetano AL, Schlapp G, Härtel S, Zunino P. Fimbriae have distinguishable roles in *Proteus mirabilis* biofilm formation. *Pathog Dis*. 2016 Jul;74(5):ftw033.
119. Zunino P, Geymonat L, Allen AG, Legnani-Fajardo C, Maskell DJ. Virulence of a *Proteus mirabilis* ATF isogenic mutant is not impaired in a mouse model of ascending urinary tract infection. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2000 Oct;29(2):137–43.
120. Scavone P, Iribarnegaray V, González MJ, Navarro N, Caneles-Huerta N, Jara-Wilde J, et al. Role of *Proteus mirabilis* flagella in biofilm formation. *Rev Argent Microbiol*. 2023 Jul;55(3):226–34.
121. Iribarnegaray V, González M, Caetano A, Platero R, Zunino P, Scavone P. Relevance of iron metabolic genes in biofilm and infection in uropathogenic *Proteus mirabilis*. *Curr Res Microb Sci*. 2021 Dec;2:100060.
122. Kwiecinska-Piróg J, Bogiel T, Skowron K, Wieckowska E, Gospodarek E. *Proteus mirabilis* biofilm - Qualitative and quantitative colorimetric methods-based evaluation. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014 Dec;45(4):1423–31.
123. Singh B, Mehta S, Asare-Amoah J, Appiah PO, Chauhan S, Amponash RD. Biofilm-associated Multi-drug Resistant Bacteria Among Burn Wound Infections: A Cross-sectional Study. *Mediterranean Journal of Infection Microbes and Antimicrobials*. 2024 Aug 15;
124. Hurlow J, Wolcott RD, Bowler PG. Clinical management of chronic wound infections: The battle against biofilm. *Wound Repair and Regeneration*. 2025 Jan 27;33(1).
125. Sen CK, Roy S, Mathew-Steiner SS, Gordillo GM. Biofilm Management in Wound Care. *Plast Reconstr Surg*. 2021 Aug 27;148(2):275e–88e.
126. Murugesan RC, Subbiah G, Lansingh GP, Santhanakumarasamy P. Catheter-associated urinary tract infection and biofilms: Dreaded duo in health settings. *Journal of Current Research in Scientific Medicine*. 2024 Jan;10(1):44–9.
127. Stickler DJ. Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. *Nat Clin Pract Urol*. 2008 Nov 14;5(11):598–608.

# ÖZGEÇMİŞ

## I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: İrem UNAT

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli

E-posta adresi

Yabancı dili: İngilizce

## II- Eğitimi

Ankara Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (2013-2019)

Ankara Mehmet Emin Resulzade Anadolu Lisesi (2009-2013)

Ankara Mimar Kemal İlköğretim Okulu (2001-2009)

## III- Ünvanları

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji - Asistan Doktor (2020-halen)

## IV- Mesleki Deneyimi

Ankara Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları – Asistan Doktor (2019-2020)

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji - Asistan Doktor (2020-2025)

## V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği

## EK'LER

### EK 1: T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI YÖNETİM KURULU KARARI: TEZ KONUSU ONAYI

Evrak Tarih ve Sayısı: 21.07.2023-263156



T.C.  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : E-86241737-100--263156  
Konu : GTF Tez İnceleme ve Değerlendirme  
Akademik Kurulu Kararları

21.07.2023

#### DAĞITIM YERLERİNE

Gülhane Tıp Fakültesi Tez İnceleme ve Değerlendirme Akademik Kurulu 20.07.2023 tarihinde saat 14:00'da Gülhane Tıp Fakültesi Dekan Yardımcısı Doç.Dr.Özhan ÖZDEMİR başkanlığında üyelerin uzaktan dijital ortamda online katılımı ile toplanmıştır. Toplantıda, Dekanlığımızla afiliye olan SUAM'larda görevli 90 (doksan) uzmanlık öğrencisine ait tez incelenerek değerlendirilmiş olup; tezlerle ilgili Ek'teki kararların alınmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Mehmet Ali GÜLÇELİK  
Dekan

Dağıtım:  
Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahisi  
Anabilim Dalı Başkanlığına  
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı  
Başkanlığına  
Üroloji Anabilim Dalı Başkanlığına  
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı  
Başkanlığına  
Acil Tıp Anabilim Dalı Başkanlığına  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı  
Başkanlığına  
Aile Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına  
Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanlığına  
Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı  
Başkanlığına  
Radyoloji Anabilim Dalı Başkanlığına  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığına  
Ankara Atatürk Sanatoryum Sağlık Uygulama ve  
Araştırma Merkezi Müdürlüğüne  
Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : \*BSMKLJP6Z5\* Pin Kodu :91872

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/sbu-ebys>

Adres:Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Yerleşkesi Emrah Mah. 0618

Bilgi için: Mehmet ÇINAR

Etilik/Keçiören/ANKARA

Unvanı: Laborant

Telefon:0 312 304 61 73 Faks:0 312 304 61 90

Tel No: 03123042051

Web:<http://sbu.edu.tr>

Keş Adresi:[sbu@hs01.kep.tr](mailto:sbu@hs01.kep.tr)



S NO		GÖREVLİ OLDUĞU SUAM	TEZ KONUSU	SONUÇ
1	Dr. Şükran Büşra İRFAN	Ankara Atatürk Sanatoryum SUAM	KOAH tanısı ile hastaneye yatan hastalarda proaktif palyatif bakım	Kabul Edildi.
2	Dr. Onur SANSAR	Ankara Atatürk Sanatoryum SUAM	Laparoskopik Sleeve Gastrektominin SF-12 yaşam kalitesi ölçęęi ve solunum fonksiyonları üzerine etkisinin araştırılması	Kabul Edildi.
3	Dr. Sena Nur AKSAKAL	GTF Acil Tıp AD.Bşk.lığı	Acil serviste solunum yetmezliği nedeni ile Non-İnvaziv mekanik Ventilasyon uygulanan hastalarda Elektrokardiyogram (EKG) bulgularının değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
4	Dr. Aybüke CANGÖZ	Ankara Şehir SUAM	Kliniğimizde histeroskopik uterin septum rezeksiyonu yapılan hastaların gebelik sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi"	Kabul Edildi.
5	Dr. Erbil ÇÜMEN	Ankara Şehir SUAM	Alt Gastrointestinal Sistem Kanamalarının Prognozunun Belirlenmesinde Charlson Komorbidite İndeksi (CCI indeksi), CURE hemostaz skoru ve Amerikan Anestezi Derneği (ASA) skorlama sistemlerinin kıyaslanması	Kabul Edildi.
6	Dr. Muhammed Bahadır AVCI	Ankara Şehir SUAM	'Nöroendokrin Farklılaşma Gösteren Meme Kanseri ile Lüminal A Meme Kanserlerinin Klinikopatolojik Faktörler Açısından Karşılaştırılması	Kabul Edildi.
7	Dr. Öykü BEZEN BALTA	Ankara Şehir SUAM	Ankara İli Mamak İlçesinde Yamaçevler Aile Sağlığın Merkezinde Bir Aile Hekimliği Birimine Kayıtlı 18 Yaş Üstü Nüfusta Dispepsi Sıklığının ve İlişkili durumlarının değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
8	Dr. Nazlı Tunca ŞANLIER	Ankara Şehir SUAM	Preeklampsi açısından yüksek riskli gebelerin mevcut gebeliklerinde preeklampsi gelişme öngörüsünde 20-32 haftalarda klinik, ultrasonografiki, ve biyokimyasal parametrelerin yeri	Kabul Edildi.
9	Dr. Uğur KOCA	Ankara Şehir SUAM	Yeni tanı kriterleri ile hemoglobinin değeri 16/16.5 gr/dl olan hastalarda PV taramasının etkinliği "	Kabul Edildi.
10	Dr. Mustafa ÖZDEMİR	Ankara Şehir SUAM	Akut pankreatit sonrası duvarlı nekroz ve /veya psödoksit gelişen hastalar klinik sonlanımı'	Kabul Edildi.
11	Dr. Pınar YILMAZ	Ankara Şehir SUAM	Çocukluk çağında Atopik Dermatit (AD) tanısı ile takip edilen hastalarda Nötrofil/Lenfosit oranı (NLO), Platelet-Lenfosit oranı (PLO) ve Eosinofil-Lenfosit oranının (ELO) hastalık şiddeti ve tedavi yanıtı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
12	Dr.Çetin KOCABIYIK	GTF AD.Bşk.lığı Üroloji	Rat modelinde Ana renal arter veya segmentel renal arter klemplenerek oluşturulan sıcak iskemiyin neden olduğu iskemi reperfüzyon hasrının patolojik ve biyokimyasal olarak karşılaştırılması	Kabul Edildi.
13	Dr. Emre ÜNAL	Ankara Dışkapı Beyazıt SUAM	Sosyal anksiyete bozukluğu tanılı hastalarda hastalık şiddeti alturizm ve oksitosin seviyesi arasındaki ilişkinin incelenmesi	Kabul Edildi.
14	Dr. İrem UNAT	GTF Mikrobiyoloji Bşk.lığı Tıbbi AD	Klinik Proteus mirabilis izolatlarında biyofilm aktivitesinin ve biyofilm oluşumundan sorumlu genlerin araştırılması	Kabul Edildi.
15	Dr.Sertac Yiğit BİNZET	Ankara Sağlık SUAM	Astım hastalarında inhaler cihaz kullanma becerisi ile hastalık kontrolü arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
16	Dr. Özge DOĞANAY	Ankara Şehir SUAM	Gestasyonel ve pregestasyonel diyabetes mellitusu olan gebelerde plazma asprosin düzeyinin gebelik prognozu ile ilişkisi	Kabul Edildi.
17	Dr. Göktuğ ALAKUŞ	Ankara Şehir SUAM	Polikistik over sendromu hastaları ile sağlıklı kadınlar arasındaki serum delta nötrofil indeksi	Kabul Edildi.

## EK 2: GÜLHANE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ EĞİTİM PLANLAMA KURULU (EPK) KARARI: ARAŞTIRMA İZİN ONAYI



T.C.  
ANKARA VALİLİĞİ  
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ  
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi



Sayı : E-50687469-799-213406830  
Konu : Araştırma İzni (Dr. İrem UNAT)

12.04.2023

GÜLHANE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ BAŞHEKİMLİĞİNE  
(Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği Birimi)

“Klinik *Proteus Mirabilis* İzolatlarında Biyofilm Aktivitesinin ve Biyofilm Oluşumundan Sorumlu Genlerinin Araştırılması” başlıklı tez çalışmamızı hastanemizde uygulama talebiniz Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Eğitim Planlama Kurulu (EPK)'nun 06.04.2023 tarih ve 5 no’lu toplantısında görüşülerek kabul edilmiştir.

Klinik Araştırmalar Yönetmeliğinin 23. maddesine istinaden etik kurul onayı alındıktan sonra araştırmaya başlanabilir. Aynı Yönetmeliğin 1. Bendi uyarınca araştırmanın bütçesinin karşılanmasından araştırmacılar sorumludur.

Gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi Cem GÜL  
Başhekim

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge doğrulama kodu: D99E9853-70BE-4DFF-A8A5-A50E54EA5800

Belge doğrulama adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/saglik-bakanligi-ebys>

General Dr. Tevfik Sağlam Cad. No:1 06010 Etlik/Keçiören/Ankara 06010  
Telefon No:  
e-Posta: İnternet Adresi: <https://www.saglik.gov.tr/>  
Kep Adresi:

Bilgi için: Meral AYDIN  
Veri Hazırlama Ve Kontrol İşlt.

Telefon No: 03123046106



**EK 3: SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN  
ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME  
RAPORU: ETİK KURUL ONAYI**



T.C.  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 46418926  
Konu : Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Kararları

26.09.2023

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

TOPLANTI TARİHİ : 26.09.2023  
TOPLANTI SAATİ : 13:15 (toplantı online yapılmıştır.)  
TOPLANTI NO : 2023/08  
PROJE/ KARAR NO : 2023-329 (Değerlendirilme Tarihi: 26.09.2023)

Üniversitemiz Gülhane Tıp Fakültesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Tuğrul HOŞBUL'un sorumlu araştırmacı, Dr. İrem UNAT'ın yardımcı araştırmacı olduğu, 2023/329 kayıt numaralı, "**Klinik Proteus Mirabilis İzolatlarında Biyofilm Aktivitesinin ve Biyofilm Oluşumundan Sorumlu Genlerin Araştırılması**" başlıklı tıpta uzmanlık tezi proje önerisi, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur. Rica ederim.

Sıra No	Unvanı ve Adı/Soyadı	Kuruldaki Görevi	İmza
1	Prof. Dr. Ahmet COŞAR	Başkan	Λ
2	Prof. Dr. Alper GÖZÜBÜYÜK	Başkan Yardımcısı	
3	Prof. Dr. Selahattin BEDİR	Üye	
4	Prof. Dr. Levent KENAR	Üye	
5	Prof. Dr. Onur ERDEM	Üye	
6	Prof. Dr. Ali Kağan COŞKUN	Üye	
7	Prof. Dr. Hüseyin Levent YAMENEL	Üye	
8	Prof. Dr. Fulya TOKSOY TOPÇU	Üye	
9	Prof. Dr. Gülten GÜVENÇ	Üye	
10	Prof. Dr. Dilek YILDIZ	Üye	
11	Prof. Dr. Eda PURUTÇUOĞLU	Üye	
12	Prof. Dr. Mehmet Erhan YUMUŞAK	Üye	
13	Prof. Dr. Umut BEYLİK	Üye	
14	Doç. Dr. Serkan PEKÇETİN	Üye	
15	Doç. Dr. Asiye Çiğdem ŞİMŞEK	Üye	
16	Doç. Dr. Sait YEŞİLLİK	Üye	
17	Doç. Dr. Nezhat Özgül ÜNLÜER	Üye	
18	Dr. Öğr. Üyesi Eray Serdar YURDAKUL	Üye	

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu  
Etik-Ankara Telefon: 0 (312) 304 6135