



**TAM GENOM DİZİLERİ PATRIC VERİTABANINDA
YER ALAN *ESCHERİCHIA COLI* İZOLATLARININ
TİPLENDİRİLMESİ**

Esengül UZUN
Veterinerlik Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mehmet Cemal ADIGÜZEL

Yüksek Lisans Tezi-2024



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**TAM GENOM DİZİLERİ PATRIC VERİTABANINDA
YER ALAN *ESCHERİCHIA COLI* İZOLATLARININ
TİPLENDİRİLMESİ**

Esengül UZUN

**Veterinerlik Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mehmet Cemal ADIGÜZEL**

**ERZURUM
2024**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçesi.....	3
2.2. Morfolojik Özellikleri.....	3
2.3. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri	4
2.4. Antijen Yapısı	5
2.4.1. Somatik O Antijeni	5
2.4.2. Flagellar H Antijeni	5
2.4.3. Kapsül K Antijeni	6
2.5. Patojenite ve Virülans Faktörleri	6
2.6. Antimikrobiyal Direnç	8
2.6.1. β -Laktamlara Direnç	11
2.6.2. Florokinolonlara Direnç.....	12
2.6.3. Aminoglikozitlere Direnç	13
2.6.4. Tetrasiklinlere Direnç	14
2.6.5. Sülfonamidlere ve Trimetoprima Direnç	14
2.6.6. Fenikollere Direnç	15
2.7. Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC) Veritabanı	15

2.8. Multi Locus Sequence Typing (MLST).....	16
3. MATERYAL VE METOT.....	19
3.1. İzolatlar	19
3.2. <i>In silico</i> Analizler.....	21
4. BULGULAR.....	23
4.1. İzolatlar	23
4.2. Antimikrobiyal Direnç Bulguları.....	23
4.3. Virülans Genleri.....	26
4.4. Plazmid Bulguları	27
4.5. Serotip Bulguları.....	28
4.6. MSLT Bulguları.....	29
4.7. Filogenetik Analiz Bulguları.....	30
5. TARTIŞMA.....	32
KAYNAKLAR	41
EKLER	53
EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu.....	53
EK-2. Etik Kurul Onay Formu	54

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi çalışmalarım süresince değerli bilgi ve önerileriyle bana yol gösteren, tecrübesi, açık fikirliliği ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında büyük bir sabırla yardımlarını esirgemeyen, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet Cemal ADIGÜZEL'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimimde kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Seyda CENGİZ'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tüm eğitim ve tez çalışmalarım boyunca sabır, anlayış ve sevgileri ile her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve aldığım kararlarda her zaman yanımda olan aileme, akla hayale gelmeyecek tüm zorluklara ve olumsuz koşullara rağmen çalışma tezimi buralara kadar getirebildiğim için özellikle kendime tüm kalbimle teşekkür ederim.

Esengül UZUN

ÖZET

Tam Genom Dizileri PATRIC Veritabanında Yer Alan *Escherichia coli* İzolatlarının Tiplendirilmesi

Amaç: Bu çalışmada sığırlardan izole edilmiş PATRIC = Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC) veri tabanında yer alan 94 *Escherichia coli* izolatının tam genom dizilerini *in silico* olarak filogenetik analiz, antimikrobiyel direnç genleri, virülens genleri, plazmid, serotip ve sekans tiplerinin saptanarak genotiplendirilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot: BV-BRC veri tabanında tam genome (complete) dizi analizleri bulunan, sığır kökenli ve farklı ülkeleri kapsayan 94 adet *E. coli* izolatları bu çalışmaya dahil edildi. İzolatların antimikrobiyel direnç genleri, virülens genleri, plazmid, serotip ve sekans tipleri ise Center of Genomic Epidemiology web sitesinde yer alan online araçlar kullanılarak araştırıldı. Tam genom filogenetik analiz, BV-BRC içinde yer alan filogenetik ağaç oluşturma aracı kullanılarak gerçekleştirildi. Analizler sonrasında elde edilen veriler iTOL web sitesi online programı ile görselleştirildi.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 94 *E. coli* izolatının 38'inin antimikrobiyel direnç geni taşıdıkları saptandı. Bu 38 izolatın aminoglikozid, kinolon, β -laktam, sülfonamid, makrolid, tetrasiklin, fosfomisin ve kloramfenikol direnç genleri tespit edildi. Ayrıca izolatların IncFII, IncN, IncHI2A plazmidleri taşıdığı tespit edildi. İzolatların H7 ve O157 serotiplerine sahip olduğu ve *stx1* ve *stx2* virülens geni taşıdığı saptandı. ST10, ST11, ST457 sekans tipine sahip izolatlar tespit edilmiştir.

Sonuç: Farklı ülkelerden bildiri yapılan *E. coli* izolatlarının yaygın bir genotipik dağılım gösterdiği ve bu izolatların farklı grup antimikrobiyel direnç taşıdığı belirlendi. Bu durum *E. coli* izolatlarındaki genotipik değişimin sürekli olarak araştırılması gerektiğini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, *Escherichia coli*, genom analizi, *in silico*

ABSTRACT

Characterization of *Escherichia coli* Isolates with Complete Genome Sequences in the PATRIC Database

Aim: This study aimed to perform in silico phylogenetic analysis of the complete genome sequences of 94 *Escherichia coli* isolates isolated from cattle in the PATRIC = Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC) database, and to genotype their antimicrobial resistance genes, virulence genes, plasmids, serotypes and sequence types.

Material and method: 94 *E. coli* isolates of bovine origin and covering different countries, whose complete genome sequence analyses were available in the Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC) database, were included in this study. Antimicrobial resistance genes, virulence genes, plasmid, serotype and sequence types of the isolates were investigated using online tools on the Center of Genomic Epidemiology website. Full genome phylogenetic analysis was performed using the phylogenetic tree creation tool in BV-BRC. The data obtained after the analyses were visualized with the iTOL online program.

Results: It was found that 38 of the 94 *E. coli* isolates included in the study carried antimicrobial resistance genes. Of these 38 isolates aminoglycoside, quinolone, β -lactam, sulfonamide, macrolide, tetracycline, fosfomycin and chloramphenicol resistance genes were detected. IncFII, IncN, IncHI2A plasmids were detected. H7 n=7 O157 n=6 serotypes were detected. It was found to carry *stx1* and *stx2* virulence genes. Isolates with ST10, ST11, ST457 sequence types were detected.

Conclusion: It was determined that *E. coli* isolates reported from different countries showed a widespread genotypic distribution and these isolates carried different groups of antimicrobial resistance. This situation emphasises that the genotypic change in *E. coli* isolates should be investigated continuously.

Key Words: Antibiotic resistance, *Escherichia coli*, genome analysis, *in silico*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMR	: Antimikrobiyal direnç
APEC	: Avian patojenik <i>E. coli</i>
DAEC	: Yaygın adherent <i>E. coli</i>
EAEC	: Enteroagregatif <i>E. coli</i>
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ExPEC	: Ekstraintestinal Patojen <i>E. coli</i>
IPEC	: İntestinal Patojen <i>E. coli</i>
MLST	: Multi locus sequence typing
MPEC	: Meme patojenik <i>E. coli</i>
NMEC	: Neonatal menenjit <i>E. coli</i>
SEPEC	: Septisemiden sorumlu <i>E. coli</i>
UPEC	: Üropatojenik <i>E. coli</i>

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. CGE veritabanı taraması sonucunda antibiyotik dirençli olduğu saptanan 38 <i>E. coli</i> izolatının antimikrobiyal direnç profili.....	24
Şekil 4.2. Çalışmada antimikrobiyal direnç geni taşıdığı saptanan 25 <i>E. coli</i> izolatının antimikrobiyal direnç gen dağılımı	24
Şekil 4.3. 38 <i>E. coli</i> izolatında yıllara göre tespit edilen antibiyotik direnç durumu	25
Şekil 4.4. Kıtalara göre 38 <i>E. coli</i> izolatında tespit edilen antibiyotik direnç oranları...	26
Şekil 4.5. Çalışmada virülens genleri araştırılan 38 izolatın virülens gen dağılımını gösteren pasta grafiği	27
Şekil 4.6. Antimikrobiyal direnç geni taşıyan 38 izolatın plazmid içeriği	28
Şekil 4.7. Çalışmada antimikrobiyal direnç geni taşıdığı saptanan 38 <i>E. coli</i> izolatının H serotipi analizi.....	29
Şekil 4.8. Çalışmada antimikrobiyal direnç geni taşıdığı saptanan 38 <i>E. coli</i> izolatının O serotipi analizi.....	29
Şekil 4.9. Antimikrobiyal direnç saptanan 38 <i>E. coli</i> izolatının MLST analizi sonucunda sekans tiplerinin analizi.....	30
Şekil 4.10. Farklı ülkelerden 38 <i>Escherichia coli</i> genomu barındıran çekirdek genoma dayalı Maximum-likelihood filogenetik ağacı.....	31

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 2.1. Etki mekanizması ve hedef bölgelerine göre antimikrobiyallerin sınıflandırılması.....	9
Tablo 3.1. BV-BRC veritabanında tam genomları bulunan 94 <i>E. coli</i> izolatına ait genome ID, GenBank erişim numarası, ülke ve izolat kaynağına ait bilgiler	19



1. GİRİŞ

Biyolojik sınıflandırmada bağırsaklarda yaşayan Enterobacteriaceae ailesi içinde bulunan *Escherichia coli*, Gram negatif, sporsuz, küçük çomak şeklinde, 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm çapında, fakültatif anaerobik, peritrik flagellaya sahip hareketli, bazı suşları kapsüllü ve birden fazla antijenik yapıya sahip mikroorganizmalardır (Denamur ve ark., 2021; Manges ve ark., 2019; Pakbin ve ark., 2021). Memeliler sınıfında yer alan tüm canlıların bağırsaklarında bulunur. *E. coli* bağırsak florasının bir üyesi olarak yer alır ve sayıca artması durumunda enfeksiyon meydana gelmektedir (Riley, 2020). Dışkıyla kontamine olmuş su ve yemlerin tüketilmesi sonucunda enfeksiyon meydana gelmektedir. Bakterinin antijenik yapısı, patotipleri ve virülens faktörlerine sahip olması, bakterinin antimikrobiyel tedaviye direnç göstermesine sebebiyet vermektedir (Sora ve ark., 2021).

Antimikrobiyal direnç (AMR) gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için büyük sorunlara sebep olmaktadır. En önemlisi ise ekonomik kayıplardır. Gelişmekte olan ülkelerde; belirli antibiyotiklere dirençli veya duyarlı suşların belirlenmesi, antibiyotiğe dirençli patojenlere karşı mücadelede rol oynamaktadır (Cormican ve Vellinga, 2012). Antibiyotik dirençli bakteriler, patojenlerin kontrol altına alınmasını ve hastalıkların iyileşme yeteneğini büyük ölçüde zayıflatması ve mutasyona uğramış bakterilerin mevcut ilaçları işe yaramaz hale getirmesi, antimikrobiyel dirence karşı mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Bu patojenlere karşı mücadelede geleneksel yöntemler zaman alıcı olduğundan, son zamanlarda bu görev için genetik yaklaşımlar geliştirilmiş ve önemli gen özelliklerini tanımlamak için mikrobiyal suşların tam genom dizileri oluşturulmuştur (Smith ve Coast, 2013). Bazı patojen suşların antibiyotik direnç mekanizmalarını göstermek için genom analizleri kullanılmaktadır. Bu amaçla BV-BRC veri tabanı, ilgili genleri, proteinleri ve genomik bilgileri toplayan en kapsamlı, antibiyotik direnç veri

tabanlarından biridir. 80.000'den fazla bakteri koleksiyonu BV-BRC veri tabanında bulunmaktadır (Wattam ve ark., 2017).

Bu çalışmada sığırlardan izole edildiği bildirilen BV-BRC veri tabanında yer alan *E. coli* izolatının tam genom dizilerini kullanarak *in silico* olarak antimikrobiyel direnç genleri, virülens genleri, plazmid, serotip, sekans tipi ve filogenetik analizlerinin yapılarak genotiplendirilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçesi

E. coli, 1885'te Alman-Avustralyalı pediatrist ve bakteriyolog olan Theodor Escherich tarafından bebek dışkılarında keşfedilmiştir. Kelime olarak "coli", kalın bağırsaktan anlamında olup *Bacterium coli commune* ismi ile tanımlanmıştır. 1919 yılında Castellani ve Chalmers etkeni bulan araştırmacının adına ithafen *Escherichia coli* olarak isimlendirmiştir ve daha sonra *E. coli* kısaltmasıyla ifade edilmiştir (Minodier, 2011).

Escherichia coli, bakteri biyolojisinin açığa çıkarılması sırasında en çok kullanılan mikroorganizmalardan biri olup fırsatçı patojen olarak çeşitli enfeksiyonlara neden olmuştur. Genetik rekombinasyon, bakteriyel konjügasyon ve operon gibi terimler ilk bu bakteri üzerinde keşfedilmiştir. Ayrıca DNA'nın replikasyonu, RNA protein sentezi gibi moleküler biyolojideki birçok mekanizma bu bakteri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konulmuştur (Leichert, 2011).

2.2. Morfolojik Özellikleri

Escherichia coli bağırsakta kommensal olarak yaşayan fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen Gram (-) bir bakteridir. Mikroskopta kırmızı pembe çomaklar şeklinde görünür ve boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm çapındadır. Peritrik flagellaya sahip ve hareketlidir. Bazı suşları kapsüllüdür. Birden fazla antijenik yapıya sahiptir (Kaper ve ark., 2004). O antijeni ile karakterize edilen bakteri suşlar kümesi bir "serogrup" oluştururken, O antijeni ve H antijeninin belirli bir kombinasyonu bir izolatın "serotipini" tanımlamaktadır. Kauffmann sınıflandırmasında analiz edilen ek antijenler K (kapsüler) ve F (fimbriyal) antijenleridir (Sora ve ark., 2021). Kapsüler "K" antijenleri %2 oranında polimerik asitler içeren şekerlerdir ve bunlar virulensle ilişkilidirler (Aydın ve ark., 2006).

2.3. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

E. coli için en uygun üreme ısısı 37°C'dir, fakat 18-44°C' üreyebilme özelliği göstermektedir. MacConkey agarda pembe renkte, eosin methylene blue (EMB) agarda ise koyu yeşil renkte, siyah-metalik parıldamalı görünümde koloniler oluşturmaktadır. *E. coli* birçok şekeri fermente ederek (ksiloz, glikoz, mannitol, maltoz, ramnoz ve sorbitol) asit ve gaz oluşturmaktadır. Triptofanı ayrıştırarak indol halkası oluşturmaktadır. Voges proskauer ve oksidaz testleri negatif, fakat metil red testi pozitif ve nitratı nitrite indirgemektedir. *E. coli* glikozu fermente ederek gaz ve asit meydana getirerek önemli biyokimyasal özelliklerinden birini gerçekleştirir. *E. coli*'nin hareketsiz suşları glikozdan gaz üretmez ve laktoz fermentasyonu yapmazlar (Denamur ve ark., 2021; Pakbin ve ark., 2021).

Sıvı besiyerlerinde *E. coli* yoğun üreme gösterir ve homojen bulanıklık yapmaktadır. Bakteri uygun katı besiyerindeki 18-24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kenarları düzgün, S (Smooth) tipi koloni, 2-3 mm çapında, beyaz-gri renk meydana getirirler. Tekrar yapılan pasajlarda granüler R (Rough) tipi şeklinde ve mat-kaba koloniler oluştururlar (Hossain ve ark., 2021). Bazı suşlar ise besiyerinde daha yavaş üreme eğilimindedir. CO₂'li ortamda çikolata agarda kanlı agardan daha iyi üreme gösterirler. (Denamur ve ark., 2021; Pakbin ve ark., 2021). *E. coli* dış etkilere oldukça dayanıklıdır. Oda sıcaklığında (25°C) uzun süre, 55 °C'de bir saat, 60 °C'de 30 dakika canlı kalabilirler. Dezenfektanlara duyarlı, soğuğa dirençlidirler. Bakterinin fuksin ve malaşit yeşili boyalar ile bizmut sitrat, sodyum tetratiyonat, sodyum sülfat, safra tuzları, sodyum dezoksikola ve selenit tuzlarına karşı direnci *Shigella* ve *Salmonella* spp. göre daha düşüktür (Bilgehan, 2000).

2.4. Antijen Yapısı

E. coli yapısal olarak flagellar (H), somatik (O) ve kapsüler (K) antijen taşır. (Basavaraju ve Gunashree, 2022; Gebregiorgis ve Tessema, 2016; Omerovic ve ark., 2017).

2.4.1. Somatik O Antijeni

O antijeni ısıya dayanıklı olup dış hücre zarını oluşturur. Kaynatma ve alkol ile muameleye dirençli iken formol ile kısa sürede inaktive olur. *E. coli* somatik O antijenleri, *Shigella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Providencia* ve gibi bakterilerin somatik O antijenleri ile çapraz reaksiyon verebilmektedir (Bilgehan, 2000). Somatik O antijeni yapısı beş veya daha fazla sayıda farklı polisakkarit grubunun bir araya gelmesiyle oluşur. Günümüze kadar 180'den fazla farklı somatik O antijen grubunun olduğu bilinmektedir (Omerovic ve ark., 2017). Buzağı ishalleri içinde en yaygın görülen O8, O9, O15, O20, O26, O35, O45, O78, O86, O101, O115, O117 ve O119 serotipleri buzağılarda hastalık oluşturan tiplerdir (Gebregiorgis ve Tessema, 2016).

2.4.2. Flagellar H Antijeni

H antijenleri (flagella antijenleri) protein yapısında olup yüksek sıcaklıklardan olumsuz etkilenirler. *E. coli*'nin 60 farklı H antijenine sahip olduğu saptanmıştır. Bir bakteri her zaman aynı H antijenine sahip flagella oluşturabilir ve H antijenleri tek fazlı olabilmektedir (Denamur ve ark., 2021; Pakbin ve ark., 2021). H antijenleri flagella üzerinde yer aldığı için hareketli *E. coli* suşlarında bulunabilmektedir. H antijenine bağlı serotiplendirme güvenilir değildir. Çünkü ilk izolasyonda tespit edilen izolatlar hareketsiz veya kısmen hareket gösterebilmektedir (Gebregiorgis ve Tessema, 2016; Omerovic ve ark., 2017).

2.4.3. Kapsül K Antijeni

K antijeni polisakkarit (N-asetil neuramik asit) yapıda ve 100-120°C sıcaklıkta 1-2 saat sürede inaktive olabilmektedir. 60 farklı yapıda K antijeni saptanmıştır ve O antiserumları ile aglütine olmazlar (Omerovic ve ark., 2017). K antijeni kavramını kapsül antijenini göstermek için bir sembol olarak 1945 yılında Kauffmann ve Vahlne ortaya atmıştır. (Omerovic ve ark., 2017). Buzağı ishallerinde tespit edilen K99 antijenidir (Cengiz ve Adıgüzel, 2020).

Protein yapıda olan fimbrial (F) antijenler, ilk kez K antijen olarak tanımlanmıştır. F antijeni suş tanımlamasında kullanılmaktadır (Parreira ve Gyles, 2003). Özellikle buzağı ishallerinde sıklıkla F41 antijeni tespit edilmektedir (Cengiz ve Adıgüzel, 2020).

2.5. Patojenite ve Virülans Faktörleri

Patojen mikroorganizmalar tarafından üretilen ve hastalığın oluşumunda önemli rol oynayan yapılar virülans faktör olarak adlandırılmaktadır. Virülans faktörler çoğu patojenin kolonizasyonunu ve gelişimini oluşturan enzimlerdir (Denamur ve ark., 2021).

E. coli hayvanların bağırsak florasında yer almaktadır. Pütrefaksiyon ve fermentasyon dengesinin düzenlenmesinde ve besinlerin sindirilmesinde görev almaktadır. Bağırsakta diğer flora bakterileri ile dengede kaldığı için hastalık yapmamaktadır. *E. coli* suşlarında bu dengenin bozulmasıyla bağırsak hastalıklarına sebep olduğu gibi bağırsak dışına çıkıp diğer dokularda da enfeksiyonlara sebep olabilmektedir (Denamur ve ark., 2021; Pakbin ve ark., 2021).

Meninkslere, idrar yollarına, peritona ve safra kesesine ulaşan *E. coli* suşları önemli hastalıklara sebebiyet vermektedirler. Bu hastalıkların oluşmasında konağa ait faktörlerin dışında mikroorganizmaya ait virülans faktörlere sahip olması büyük önem arz etmektedir (Bilgehan, 2000).

E. coli suşlarının virülans faktörleri arasında üreme hızı, siderofor üretimi (adezyon), kapsül oluşturma, hücrelere yapışma yeteneği, konak hücreye ürettiği toksinlerle zarar verme, fimbria varlığı, sitotoksik nekrotizan faktör ve hemolizin varlığı, kolisin V üretimi, serum direnci, belirli O ve K serogrubuna ait olma, antimikrobilyallere direnç gibi özellikler gösterilmektedir (Ustaçelebi, 1999).

E. coli gastrointestinal sistemde (İntestinal Patojen *E. coli* (IPEC)) ve dışında (Ekstraintestinal Patojen *E. coli* (ExPEC)) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bu gruplar kendi içerisinde farklı patotiplere sahiptir. IPEC grubunda yer alan patotipler; çocuklarda ve hayvanlarda ishale neden olan enteropatojenik *E. coli* (EPEC), hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendromdan sorumlu enterohemorajik *E. coli* (EHEC), seyahat ishali, domuz ve sığır ishalinin ana nedeni olan enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) çocuklarda ve insanlarda kalıcı ishale neden olabilen enteroagregatif *E. coli* (EAEC) yaygın adherent *E. coli* (DAEC), sulu ishale ve dizanteriye neden olan enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)'yi içermektedir (Palaniappan ve ark., 2006). ExPEC grubunda ise üropatojenik *E. coli* (UPEC), neonatal menenjit *E. coli* (NMEC), septisemiden sorumlu *E. coli* (SEPEC), meme patojenik *E. coli* (MPEC), avian patojenik *E. coli* (APEC) (Pitout, 2012).

Çeşitli ekstraintestinal enfeksiyonu olan hastaların idrar, kan, beyin-omurilik sıvısı vb.'nden izole edilen *E. coli* izolatları, tipik olarak enfekte olmamış konaklardan alınan dışkı izolatlarına göre daha fazla spesifik moleküler belirteç prevalansı göstermektedir. Virülans faktörler, VF'ler olarak kabul edilebilir, ancak bu terim epidemiyolojik ilişkilerin mutlak nedenselliği yansıtmaması nedeniyle virülansa "katkıda bulunan" değil, "ilişkili faktörler" anlamına geldiği anlaşılmaktadır. Bu virülans faktörler işlevsel kategoriye göre gruplandırılabilir, örneğin adezinler (fimbrial ve fimbrial olmayan), siderofor sistemleri, toksinler, yüzey polisakkaritleri, invazinler, serum direnciyle ilişkili özellikler ve çeşitli veya bilinmeyen işlevli özellikler olarak

sınıflandırabilmektedir. Bu sınıflandırma içerisinde adezinler grubunda *afa/dra* , *afaE*, *csgA*, *fimH*, *papA*, *papC* , toksinler grubunda *astA*, *hlyE*, *sat*, *chuA*, *fyuA*, *irp*, *ireA*, *iuc*, *iutA* , yüzey polisakkarit grubunda *iss*, *kpsM_K15*, *kpsMIII_K98* , *traT* , invazinler grubunda *aslA*, *nlpI*, *ompA*, *traJ*, *cvaC*, *ompT* gibi virülens genlerin bağlı bulunduğu grubun işlevlerini gerçekleştirmektedir. Klinik izolatlar genellikle birden fazla virülans faktör içermektedir. Buna karşılık, bazı virülans suşlar, bu işlevsel kategori gruplarından bir veya daha fazlasını taşımaya bilmektedir. Bu tür belirgin eksikliklerin diğer işlevsel kategorilerden gelen virülans faktörleri tarafından telafi edilip edilmediği veya bu suşların aslında "eksik" virülans faktörlerini taşıyıp taşımadıkları bilinmemektedir (Johnson ve Russo, 2018).

2.6. Antimikrobiyal Direnç

Alexander Fleming'in stafilokok cinsi bakteriler üzerinde yaptığı çalışma sırasında, kültür ortamını kontamine eden bir küf mantarının etrafında bakterinin üreyemediğini fark etmiştir. Mantar kültür filtratlarının enfeksiyonlarda birçok bakteriye karşı etki gösterdikleri yapılan deneyler sonucunda gözlemlenmiştir. İlk antibiyotik Alexander Fleming tarafından 1928'de keşfedilmiş ve çoğalan küf mantarlarının *Penicillium* türünden meydana gelmesiyle etkin maddeye "penicillin" adı verilmiştir (Gaynes, 2017).

Antibiyotikler, hücre büyümesini inhibe etmelerinin (bakteriyostatik) yanında hücrenin ölümüne de (bakterisidal) neden olmaktadır. Bakterisidal antibiyotikler, RNA, DNA, protein sentezini, hücre duvarı inhibe ederek etki gösterirler (Kohanski ve ark., 2010). Antibiyotikler etki mekanizmalarına göre beş ana gruba ayrılmaktadır Tablo 2.1 gösterilmektedir (Tenovar, 2006).

Tablo 2.1. Etki mekanizması ve hedef bölgelerine göre antimikrobiyallerin sınıflandırılması

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

Antimikrobiyal direnç gelişimi genellikle yanlış ve yaygın antibiyotik kullanımıyla oluşsa da antimikrobiyal kullanımı olmaksızın tetrasiklin ve streptomisine dirençli bakterilerin varlığı bildirilmiştir (Dadgostar, 2019; Spagnolo ve ark., 2016). Bu sebeple antibiyotik direncinin sadece yanlış ve yaygın antibiyotik kullanımıyla ilgili olmadığı ve bununla birlikte bakterilerin yaşamlarını sürdürmek için kullandıkları savunma mekanizmasının bir parçası olduğu tespit edilmiştir (Dadgostar, 2019).

Bakteriler, antimikrobiyal maddelere karşı mutasyona bağlı bir direnç geliştirebilir veya yapısal olarak direnç oluşturabilirler. Ayrıca başka organizmalardan dirençli genlerin alınması yoluyla da direnç özelliğine sahip olabilirler. Bu sebeple bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde, bakterilerin antimikrobiyal maddelere direnç göstermeleri sebebiyle tedaviler giderek zorlaşmaktadır. Kazanılan bu direnç genleri, ilacın hedef

bölgeye ulaşmasını engellemektedir veya bir bakterinin, antibiyotiği etkisiz hale getiren enzimler üretmesine yol açmaktadır. Duyarlı bakteriler antimikrobiyal direnç genlerinin aktarımında plazmid veya transpozonlar tarafından gerçekleştirilebilen transformasyon, transdüksiyon veya konjugasyon yoluyla oluşabilmektedirler. Bunun yanında sürekli ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı dirençli suşların ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Tenover, 2006).

Gram negatif, patojen bakteriler arasında antibiyotik direncinin yayılmasında genomda bulunan integronlar önemli bir rol oynamaktadır. Son on yılda, doğal ortamlarda integron çeşitliliğinin araştırılması, bunların antibiyotiğe dirençli patojenlerin ilginç bir özelliğinden daha fazlası olduğunu fakat bakteriyel adaptasyon ve genom değişimlerinin daha genel ve önemli bir role sahip olduklarını göstermektedir (Holmes ve ark., 2016; Tang ve ark., 2023). Antibiyotiklere, direnç gelişmesindeki sebeplerin en başında bilinçsiz ve yaygın antibiyotik kullanımı gelmektedir. Ayrıca dirençli bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlardaki mortalite ve morbidite oranlarının daha fazla olması problemin ne kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır (Holmes ve ark., 2016; Tang ve ark., 2023).

Bakteriler kendi ürettikleri antibiyotiklere karşı doğal olarak direnç oluştururlar. Kazanılmış antibiyotik direnci, bakterilerin daha önceden duyarlı oldukları bir antibiyotiğe karşı sonradan gösterdikleri direnç olarak tanımlanmaktadır (Holmes ve ark., 2016; Tang ve ark., 2023). Kazanılmış antibiyotik direnci, başka bir organizmadan gen ya da gen grupları aktarımı ile oluşabildiği gibi direnç mekanizmalarından birini harekete geçirerek kromozomal mutasyonlar sonucunda da ortaya çıkabilmektedir (Tenover, 2006).

Antibakteriyel direnç mekanizmaları aşağıdaki şekillerde oluşabilir:

- Antibiyotik ajanın içeri girmesini engellemek için transmembran proteinlerinin üretiminin durdurulması,
- Antibiyotiği etkisiz hale getirmek için alternatif metabolik yolların etkinleştirilmesi,
- Antibiyotiğin yapısını bozacak enzimlerin üretimi,
- Eflux pompası,
- Hedef enzimin yüksek miktarlarda üretilmesi,
- Hücrel hedef bölgenin modifikasyonudur (Wright, 2005).

2.6.1. β -Laktamlara Direnç

Bakteriler tarafından β -laktamaz üretimi indüklenebilir veya kromozomal olarak kazanılmış olabilir. Kromozomal direnç bakteriler tarafından sürekli olarak üretilir ve seviyeleri antibiyotiğin varlığına bağlı olmayıp bakteri suşu veya türünün sabit bir özelliğidir. Bu nedenle bu antibiyotiklere karşı doğal bir direnç şekillenmektedir (Kong ve ark., 2010).

E. coli'nin β -laktamlara direnci esas olarak penisilin, sefalosporin (sefamisini hariç) ve monobaktamları hidrolize edebilen ancak karbapenemleri parçalayamayan genişletilmiş spektrumlu β -laktamazların (ESBL) üretimiyle ilişkilidir ve bunların aktivitesi β -laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam) tarafından engellenmektedir (Urban-Chmiel ve ark., 2022). β -laktamazlar periplazmik boşlukta bulunur ve çoğunlukla IncF, IncI1, IncN, IncHI1 ve IncHI2 gibi büyük plazmidler tarafından kodlanmaktadır (Carattoli, 2013). β -laktamazlar, yapı ve substrat profili, yani penisilin, sefalosporinler ve karbapenemlere karşı aktivite açısından oldukça çeşitli bir enzim grubudur (Bush ve ark., 2010). CTX-M, SHV, TEM, OXA, PER, VEB ve BES, β -laktamaz direnci ile ilişkili olarak tanımlanmış bazı genlerdir. CTX-M enzimi, genellikle bir plazmid içerisinde bulunan (IncF, IncN, IncK ve IncI1 gibi) *bla*_{CTX-M} geni tarafından

kodlanan sefotaksime karşı güçlü hidrolitik aktivite gösterir (Carattoli, 2013). Karbapenemleri hidrolize eden OXA enzimleri, esas olarak Enterobacterales'te (*E. coli* dahil) bulunur ve *bla_{OXA}* plazmid genleri tarafından kodlanır. ESBL'ler, *E. coli* dahil olmak üzere Enterobacteriaceae arasında en yaygındır (Ejaz ve ark., 2021). Hayvansal kökenli birçok *E. coli* izolatında, kolistine direnci belirleyen *mcr-1* geni ve genişletilmiş spektrumlu β -laktamazları kodlayan *bla* genleri için ortak bir alanın bulunduğu bildirilmiştir (Urban-Chmiel ve ark., 2022).

AmpC β -laktamazlar, sefalosporinler ve sefepim hariç tüm penisilin ve sefalosporinleri (çoğunlukla birinci ve ikinci kuşak) parçalar, ancak aztreonamı hidrolize etmezler. Bu enzimler karbapenemleri hidrolize etmez ve klavulanik asit tarafından inhibe edilemez. Kromozomal olarak kodlanan AmpC β -laktamazlar hem insanlardan hem de hayvanlardan izole edilmiş *E. coli* suşlarında tanımlanmıştır (Urban-Chmiel ve ark., 2022).

2.6.2. Florokinolonlara Direnç

E. coli suşlarında florokinolon direnci sıklıkla GyrA proteininde ve ParC bölgelerinde görülür. Burada kodlanmış amino asitteki bir değişiklik proteinin özelliklerini değiştirebilmektedir. *E. coli*'nin *gyrA* geninde sıklıkla Ser83 ve Asp87 aminoasitlerinde değişiklik meydana gelmektedir. Buna ek olarak IncF, IncN, IncX1, IncX2 gibi plazmidler aracılığıyla direnç gelişmesi görülebilmektedir (Urban-Chmiel ve ark., 2022).

Bu mekanizmalar dışında florokinolon ve aminoglikozitlerin hedef bölgelerindeki Qnr proteinlerinde ki yapısal değişim, aminoglikozit asetiltransferaz enziminin bifonksiyonel bir varyantı olan AAC(6')-Ib-cr ve aktif taşıma ile ilişkili efflux pompa proteinleri de direnç gelişiminde rol oynamaktadır. Bu mekanizmalar, kinolonlara/florokinolonlara karşı yüksek düzeyde dirence yol açmamaktadır sadece bunlara olan duyarlılığı azaltmaktadır. Ancak kromozomal olarak kodlanan direnç

mekanizmalarıyla birlikte şekillenmeleri durumunda direnç artışına neden olabilmektedirler (Pereira ve ark., 2020; Urban-Chmiel ve ark., 2022).

2.6.3. Aminoglikozitlere Direnç

Aminoglikozitlere karşı antimikrobiyal direnç, antibiyotiğin bağlanma bölgelerinde meydana gelen kromozomal mutasyonlar ve metilazlar aracılığıyla 16S rRNA'nın modifikasyonu sonucunda şekillenmektedir. Aminoglikozit üretme yeteneğine sahip aktinobakteriler, 16S ribozomal RNA metiltransferazı (16S-RMTase) üreterek kendi aminoglikozit metabolitlerine karşı kendilerini korurlar ve bu da 16S rRNA'ya bağlanmalarını engellemektedir. Şu ana kadar on adet 16S-RMTase tanımlanmıştır. Bunlar ArmA, RmtA, RmtB, RmtC, RmtD, RmtE, RmtF, RmtG, RmtH ve NpmA'dır. NpmA, gentamisin, tobramisin ve amikasin'e karşı dirençten sorumludur, ancak neomisin ve apramisin dahil olmak üzere bu antibiyotik grubuna karşı daha geniş bir direnç spektrumu da sağlamaktadır. 16S-RMTase'leri kodlayan bazı genlerin, antibiyotiklere karşı dirençten sorumlu diğer faktörlerle birlikte var olduğu belirtilmektedir. Bir örnek, Enterobacteriaceae'de NDM (New Delhi metallo- β -laktamaz) karbapenemaz üreten *armA* geninin yüksek yaygınlığıdır. Bu karbapenemaz aynı zamanda *E. coli* tarafından da üretilmektedir (Urban-Chmiel ve ark., 2022). Aminoglikozitlere karşı direncin bir diğer mekanizması, aminoglikozit antibiyotiklerini değiştiren enzimlerdir. Bunlar, etki mekanizmalarına bağlı olarak üç gruba ayrılabilir: aminoasitlerin amin grubunda asetilasyonunu katalize eden asetiltransferazlar (AAC), aminoglikozit molekülünde bulunan aminoasitlerin hidroksil grubuna ATP'den nükleotid molekülleri bağlayan nükleotidiltransferazlar (ANT) ve antibiyotiğin şeker kalıntısının hidroksil grubunun fosforilasyonundan sorumlu fosfotransferazlar (APH)'dir. AAC, ANT ve APH bir plazmid, kromozom veya integron üzerinde bulunabilirler (Cirit ve ark., 2019; Urban-Chmiel ve ark., 2022).

Hayvanlardan ve insanlardan elde edilen *E. coli* suşlarında en sık tanımlanan asetiltransferazlar *aac(3')-II/IV* ve *aac(6')-Ib*'dir. Çeşitli hayvan türlerinden izole edilen *E. coli*'ye özgü aminoglikozit fosfotransferazlar arasında en yaygın olanlar sırasıyla *strA* ve *strB* tarafından kodlanan *aph(6)-Ia* ve *APH(6)-Id*'dir. Nükleotidiltransferaz genleri arasında *aadB* tarafından kodlanan *ant(2'')* ve *aadA* tarafından kodlanan *ant(3'')* bulunmaktadır (Marchant ve ark., 2013).

2.6.4. Tetrasiklinlere Direnç

Tetrasiklinlere direnç mekanizması çoğunlukla antibiyotiği sitoplazmadan dışarı pompalamakla görevli akış pompaları aracılığıyla gerçekleşmektedir. *E. coli*'de tetrasiklinlere direnci belirleyen akış sistemlerini kodlayan genler arasında *tet(a)*, *tet(b)*, *tet(c)*, *tet(d)*, *tet(e)*, *tet(g)*, *tet(j)*, *tet(l)* ve *tet(y)* bulunmaktadır. Tetrasiklinlere direncin bir diğer mekanizmasında, görevleri ribozomu korumak olan proteinlerdir. Ribozoma bağlanarak tetrasiklinlerin etkisini ortadan kaldırmaktadırlar. Bu şekilde meydana gelen dirençte *tet(m)* ve *tet(w)* genleri rol oynamaktadır. Ayrıca oksidoredüktaz geni kodlayan *tet(x)* geni *E. coli*'de de tanımlanmıştır (Urban-Chmiel ve ark., 2022).

2.6.5. Sülfonamidlere ve Trimetoprime Direnç

Sülfonamidlere direnci belirleyen mekanizmalar esas olarak sülfonamidlere düşük afinitesi olan dihidropteroat sentezini kodlayan *sul* genleri tarafından belirlenmektedir. Sülfonamidlere karşı dört direnç geni (*sul1*, *sul2*, *sul3* ve *sul4*) plazmidler (IncFII ve IncII gibi) tarafından aktarıldığı saptanmıştır (Li ve ark., 2022). Trimetoprim direnci, bu antimikrobiyale duyarlı olmayan dihidrofolat redüktazları kodlayan *dfr* geninin varlığıyla belirlenmektedir. *sul1* geni, sınıf 1 integronların değişken kısmındaki gen kasetinde bulunur ve genellikle diğer direnç genleriyle birlikte bulunmaktadır. *sul2* ve *sul3* genleri de diğer direnç belirleyicilerinin bulunduğu plazmidler tarafından aktarılmaktadır. Sülfonamid direnci ile ilişkili *E. coli* üzerinde yapılan çalışmalarda en sık *sul1* ve *sul2*

genleri bildirilmiştir (Jiang ve ark., 2019; Nowaczek ve ark., 2021). *E. coli*'de dahil olmak üzere başka diğer Gram negatif bakterilerde de Trimetoprim direnci belirleyen *dfr* genleri, tespit edilmiştir. Bu genler içinde en sık bildirilen ise *dfrA* genidir (Ahmed ve ark., 2010).

2.6.6. Fenikollere Direnç

Kloramfenikol direnci çoğunlukla asetiltransferaz enziminin antibiyotiği inaktif türevlere (monoasetatlar veya diasetatlar) dönüştürmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Kloramfenikol asetiltransferaz geni genellikle bir plazmid veya transpozon üzerinde kodlanır ve kromozoma taşınabilmektedir (Urban-Chmiel ve ark., 2022). Direnç mekanizmaları arasında *cmlA*, *floR* ve *cfr* gibi genler bildirilmiştir. Hayvanlardan izole edilen *E. coli* izolatlarında *catI*, *catB2* ve *catB3* genleri bildirilmiştir (Shaheen ve ark., 2010).

2.7. Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC)

Veritabanı

Genomik çağın başlamasından sonra, genomün bir bakteri türünü nasıl tanımlayabileceği sorusu tam olarak ele alınmamıştır. Deneysel veriler, bazı türlerde, birkaç suşun genomları sıralandıktan sonra bile yeni genlerin keşfedildiğini göstermiştir (Olson ve ark., 2023). Matematiksel modelleme, tür başına yüzlerce genom sıralandıktan sonra bile yeni genlerin oluşabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, bir bakteri türü, tüm suşlarda bulunan genleri içeren bir 'çekirdek genom' ve iki veya daha fazla suшта bulunan genleri içeren 'kabuk genom' ve tek suşlara özgü genleri içeren 'vazgeçilebilir bir genom'dan oluşan yapılar pan-genom olarak tanımlanmaktadır. Eşsiz genlerin sayısının çok fazla olduğu göz önüne alındığında, bir bakteri türünün pan-genomu, herhangi bir tek genomdan çok daha büyük olabilmektedir (Medini ve ark., 2005). Bir suşun belirli antibiyotiklere dirençli olup olmadığını ve özellikle antimikrobiyal aktivitesini içeren

faaliyetlerin küçük bir gen bölgesinde yer aldığı bildirilmiştir. 2005'ten beri, pan-genom analizi bakteri türleri arasındaki genetik içerikteki çeşitliliği açıklamak için etkili bir araç olarak kullanılmaktadır. "Pan-genom" terimi, belirli bir veri setindeki yedekli olmayan genlerin toplam sayısını temsil etmektedir (Carlos Guimaraes ve ark., 2015).

Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC, <https://www.bv-brc.org/>), araştırmacılara genomik ve diğer 'omik' veri analizlerini gerçekleştirmek için ihtiyaç duydukları araçları ve hizmetleri sağlamak üzere tasarlanmıştır. Antimikrobiyal direnç (AMR) konusundaki artan endişelere yanıt olarak BV-BRC ekibi, araştırmacıların AMR'yi ve onun genetik belirleyicilerini anlamalarına yardımcı olacak yeni araçlar geliştirmektedirler. Karşılaştırmalı analizleri desteklemek için, BV-BRC veritabanındaki 15.000'den fazla genoma AMR fenotip verileri eklenmiş; koleksiyonu genişletmek için genellikle kamuya açık arşivlerdeki okumalardan elde edilen genomlar bir araya getirilmiştir ve bunlarla ilişkili AMR panel verileride daha önceki çalışmalardan toplanmıştır. Araştırmacılar AMR verilerini kolayca keşfedebilir ve tüm genomlara veya bireysel genlere dayalı deneyler tasarlayabilir hale gelebilmiştir. BV-BRC, bakteriyel ve viral kaynakların işlevselliğinden yararlanarak birleşik bir veri modeli, gelişmiş web tabanlı görselleştirme ve analiz araçlarının yanında biyoinformatik hizmetleri ile bakteriyel ve viral çalışmalar için fayda sağlayan güçlü bir araç olarak ortaya çıkmaktadır (Olson ve ark., 2023; Wattam ve ark., 2017; Wattam ve ark., 2024).

2.8. Multi Locus Sequence Typing (MLST)

Multilokus dizi tiplendirmesi (Multi Locus Sequence Typing, MLST) uzun vadeli global epidemiyolojik çalışmalarda ve hastalığa sebep olan soyların belirlenmesi amacıyla temel metabolik fonksiyonlardan sorumlu "housekeeping" genlerinin dizileri karşılaştırarak mikroorganizmalar arasındaki genetik ilişkinin saptanmasını sağlayan bir yöntemdir. MLST ile nokta mutasyonları dahi tespit edilebilmektedir. Dizi verilerinin net

olması, izolatların alelik profillerinin web aracılığıyla büyük bir veri tabanındaki izolat profilleriyle kolaylıkla karşılaştırılabilir olması ve izolatların klinik materyallerden kültürlenemedikleri zaman bile kesin olarak karakterize edilebilir olmaları MLST yönteminin en büyük avantajı olmaktadır (Kotłowski ve ark., 2020).

MLST, yerel ve küresel ölçeklerde epidemiyolojik araştırmalar için rutin bir tiplendirme aracı olarak yaygın bir popülerlik kazanmıştır (Pavón ve Maiden, 2009). Antibiyotik dirençli enfeksiyonların büyük bir kısmının küçük bir dizi tipi kümesinden kaynaklanması dikkat çekicidir (Duan ve ark., 2020; Manges ve ark., 2019). MLST, interneti kullanarak bakteriyel patojenlerin virülans veya antibiyotik dirençli izolatlarının küresel yayılımını tanımlayabilen ve izleyebilen moleküler epidemiyolojiye yeni bir yaklaşım sağlamaktadır (Enright ve ark., 1999; Zueter ve ark., 2024). MLST, çok az nükleotid ikamesini bile tespit ederek oldukça ayırıcı ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve dizi belirlemesinin kolayca otomasyonunu sağlayabilmektedir. Dahası, bilgisayar veri tabanlarında kolayca erişilebilen dizi verilerine dayandığından, çok lokuslu enzim elektroforezinden daha iyi standardizasyon ve laboratuvaradan laboratuvara taşınabilirlik sunabilen mikrobiyolojik bir yöntemdir (Adiri ve ark., 2003; Pérez-Losada ve ark., 2018).

Multilokus dizi tiplendirmesi (MLST), mikroorganizmaların genomu üzerindeki korunmuş gen bölgelerini kullanarak mikroorganizmaları tiplendiren bir moleküler mikrobiyolojik yöntemdir. Bu yöntem, mikroorganizmaları sekans tiplerine (ST) göre sınıflandırır ve genellikle 5-7 korunmuş gen bölgesinin DNA dizilemesi yaparak her bir bölge için bir numara ve bütünü için bir ST numarası elde etmektedir. MLST yöntemi, klasik MLST ve çeşitli modifikasyonlarla kullanılmaktadır. Bu yöntemin, birçok alanda kullanımı bulunmaktadır. Örneğin genotiplerin belirlenmesi, moleküler epidemiyolojiye dayalı sürveyans, suş izleme, taksonomi güncelleme çalışmaları, atasal DNA

araştırmaları, bulaşıcı hastalıkların izlenmesi ve ulusal genom veri bankalarının oluşturulmasına kaynak olan bir yöntem olabilmektedir. Klasik MLST yöntemi, genellikle yedi housekeeping gen bölgesinin DNA dizilemesiyle çalışır ve elde edilen alellik dizileri uluslararası veri tabanlarıyla karşılaştırılarak tipleme sonuçları yorumlanabilmektedir. Bu yöntemin avantajları arasında küresel epidemiyolojiye uygun olması, tekrarlanabilir ve karşılaştırılabilir olması, internet üzerinden veri erişimi ve saklama imkanı sağlaması, diğer izolatlarla hızlı ve doğru karşılaştırma yapabilmesi, aynı alellik profile sahip izolatların sayısını verebilmesi ve köken araştırmalarına katkı sağlaması avantajları arasında sıralanmaktadır (Durmaz ve ark., 2022).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. İzolatlar

Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC) veritabanında (<https://www.bv-brc.org/>) tam genom dizisi ve antimikrobiyal duyarlılık sonuçları bulunan sığırlardan izole edilmiş 94 adet *E. coli* izolatı bu çalışmaya dahil edilmiştir (Tablo 3.1). Plazmid, tam genom dizisi (whole genome sequencing, WGS) ve onaylanmamış (deprecated) durumda olan izolatlar çalışma dışı bırakılmıştır.

Tablo 3.1. BV-BRC veritabanında tam genomları bulunan 94 *E. coli* izolatına ait genome ID, GenBank erişim numarası, ülke ve izolat kaynağına ait bilgiler

	Genome ID	GenBank Erişim No	Yıl	Ülke	İzolat Türü
1	1055538.11	CP035770	2020	ABD	İnek
2	1055538.12	CP035768	2020	ABD	İnek
3	1055538.14	CP031349	2020	ABD	İnek
4	1055538.16	CP031347	2020	ABD	İnek
5	1055538.6	CP031343	2020	ABD	İnek
6	1055538.8	CP035767	2020	ABD	İnek
7	745156.3	CP009166	2015	Almanya	İnek
8	758831.4	CP010344	2016	ABD	İnek
9	83334.347	CP038316	2020	ABD	İnek
10	83334.348	CP038321	2020	ABD	İnek
11	83334.349	CP038319	2020	ABD	İnek
12	83334.378	CP038421	2020	ABD	İnek
13	83334.383	CP038423	2020	ABD	İnek
14	83334.384	CP038425	2020	ABD	İnek
15	83334.385	CP038428	2020	ABD	İnek
16	3041057.9	CP123009	2021	Güney Africa	İnek
17	562.112410	CP109601	2021	Çin	İnek
18	562.126111	CP123008	2021	Güney Africa	İnek
19	562.124790	CP119734	2020	Çin	İnek
20	562.124791	CP119740	2020	Çin	İnek
21	562.124997	CP121157	2020	Çin	İnek
22	562.124999	CP121153	2020	Çin	İnek
23	562.125000	CP121155	2020	Çin	İnek
24	562.125001	CP121151	2020	Çin	İnek
25	562.125003	CP121199	2020	Çin	İnek
26	562.124160	CP098234	2018	Çin	İnek

Tablo 3.1. (Devamı)

	Genome ID	GenBank Erişim No	Yıl	Ülke	İzolat Türü
27	562.124161	CP074354	2018	Çin	İnek
28	562.124162	CP074359	2018	Çin	İnek
29	562.124164	CP074366	2018	Çin	İnek
30	562.50719	CP040927	2018	Çin	İnek
31	562.76479	CP067399	2018	Çin	İnek
32	562.76480	CP068041	2018	Çin	İnek
33	562.46069	CP038791	2017	İsviçre	İnek
34	562.70535	CP065136	2016	Yeni Zelenda	İnek
35	562.55805	CP043414	2015	Fransa	İnek
36	562.58441	CP043541	2015	Güney Kore	İnek
37	1392858.5	CP023644	2014	ABD	İnek
38	562.131935	CP119000	2014	Yeni Zelenda	İnek
39	562.131936	CP119011	2014	Yeni Zelenda	İnek
40	562.131939	CP118997	2014	Yeni Zelenda	İnek
41	562.13736	CP010116	2014	Çin	İnek
42	562.13737	CP010121	2014	Çin	İnek
43	562.13738	CP010132	2014	Çin	İnek
44	562.13739	CP010133	2014	Çin	İnek
45	562.13746	CP010117	2014	Çin	İnek
46	562.13747	CP010119	2014	Çin	İnek
47	562.13748	CP010122	2014	Çin	İnek
48	562.13749	CP010125	2014	Çin	İnek
49	562.13750	CP010129	2014	Çin	İnek
50	562.13783	CP010240	2014	Çin	İnek
51	83334.194	CP016625	2014	ABD	İnek
52	2773706.3	CP061758	2013	ABD	İnek
53	562.111035	CP104123	2013	ABD	İnek
54	562.111036	CP104117	2013	ABD	İnek
55	562.20504	AP017620	2013	Japonya	İnek
56	562.9030	CP014314	2013	ABD	İnek
57	2491679.3	CP023165	2012	ABD	İnek
58	2773707.3	CP061764	2012	ABD	İnek
59	562.20506	AP017617	2012	Japonya	İnek
60	83334.284	CP033605	2012	Türkiye	İnek
61	83334.190	CP015846	2011	ABD	İnek
62	83334.191	CP015842	2011	ABD	İnek
63	83334.192	CP015843	2011	ABD	İnek
64	562.55130	CP026935	2010	Fransa	İnek
65	1055534.4	CP028126	2009	ABD	İnek

Tablo 3.1. (Devamı)

Genome ID	GenBank Erişim No	Yıl	Ülke	İzolat Türü	
66	1055540.4	CP028112	2009	ABD	İnek
67	1055541.4	CP028122	2009	ABD	İnek
68	1055544.3	CP028379	2009	ABD	İnek
69	562.30339	CP028381	2009	ABD	İnek
70	562.30433	CP028429	2009	ABD	İnek
71	562.55128	CP026932	2007	Fransa	İnek
72	83334.290	CP035366	2006	ABD	İnek
73	562.72330	CP063969	2005	ABD	İnek
74	1078021.4	CP031892,	2004	Kanada	İnek
75	1078021.4	CP031893	2004	Kanada	İnek
76	2773705.3	CP061754	2004	Uruguay	İnek
77	562.55127	CP026929	2004	Fransa	İnek
78	83334.337	CP038284	2002	ABD	İnek
79	83334.341	CP038292	2002	ABD	İnek
80	83334.353	CP038333	2002	ABD	İnek
81	83334.375	CP038402	2002	ABD	İnek
82	83334.382	CP038414	2002	ABD	İnek
83	83334.338	CP038287	2000	ABD	İnek
84	83334.339	CP038290	2000	ABD	İnek
85	83334.342	CP038300	2000	ABD	İnek
86	83334.343	CP038302	2000	ABD	İnek
87	83334.345	CP038305	2000	ABD	İnek
88	83334.350	CP038324	2000	ABD	İnek
89	83334.351	CP038328	2000	ABD	İnek
90	83334.344	CP038309	1999	ABD	İnek
91	83334.356	CP038344	1999	ABD	İnek
92	83334.380	CP038419	1999	ABD	İnek
93	83334.381	CP038416	1999	ABD	İnek
94	562.138544	CP111101	1991	ABD	İnek

3.2. *In silico* Analizler

İzolatlara ait bilgiler BV-BRC veritabanında kaydedildikten sonra *in silico* analizler Center of Genomic Epidemiology (CGE) web sitesinde (<https://www.genomicepidemiology.org/>) yer alan online araçlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Antimikrobiyal direnç genleri (<http://genepi.food.dtu.dk/resfinder>)

Virölans genleri (<https://cge.food.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>), plazmid (<https://cge.food.dtu.dk/services/PlasmidFinder/>), serotip (<https://cge.food.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>) ve sekans tipleri (<https://cge.food.dtu.dk/services/MLST/>) ilgili online araçlar kullanılarak araştırılmıştır. İzolatların tam genom filogenetik analizlerin Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (<https://www.bv-brc.org/>) web sitesinde yer alan filogenetik ağaç oluşturma aracı kullanılmıştır.



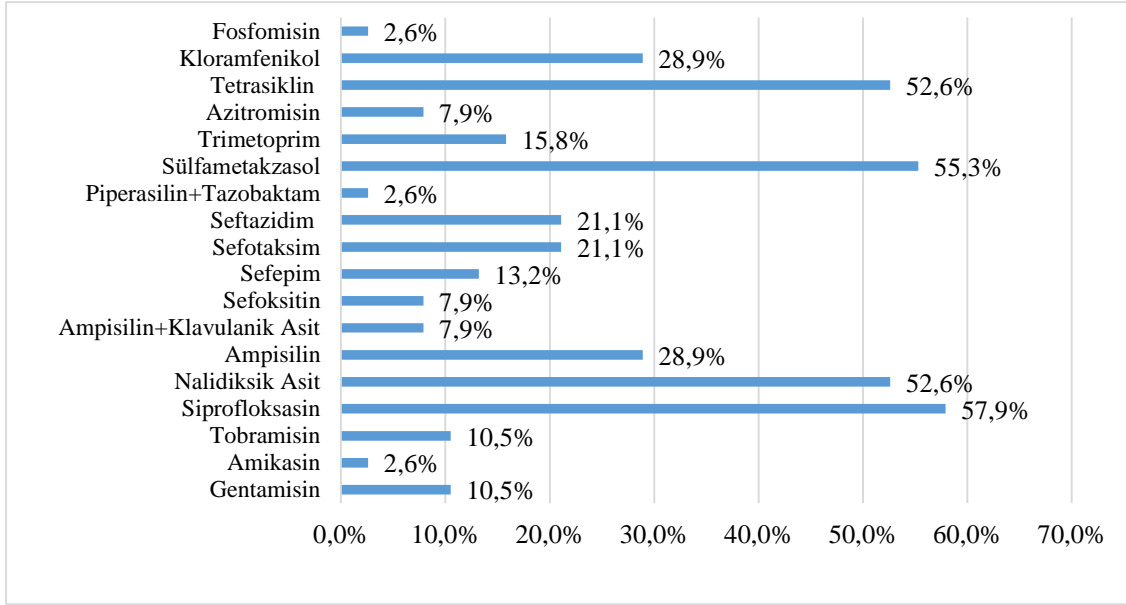
4. BULGULAR

4.1. İzolatlar

Çalışmaya, 1991-2021 yılları arasında Türkiye (n=1), Almanya (n=1), Güney Kore (n= 1), İsviçre (n=1), Uruguay (n=1), Kanada (n=2), Güney Afrika (n=2), Japonya (n=2), Yeni Zelanda (n=4), Fransa (n= 4), Çin (n=25) ve ABD (n=50)'den bildirim yapılan tam genom dizisine (complete) sahip, ineklerden izole edilmiş toplam 94 *E. coli* suşu dahil edilmiştir.

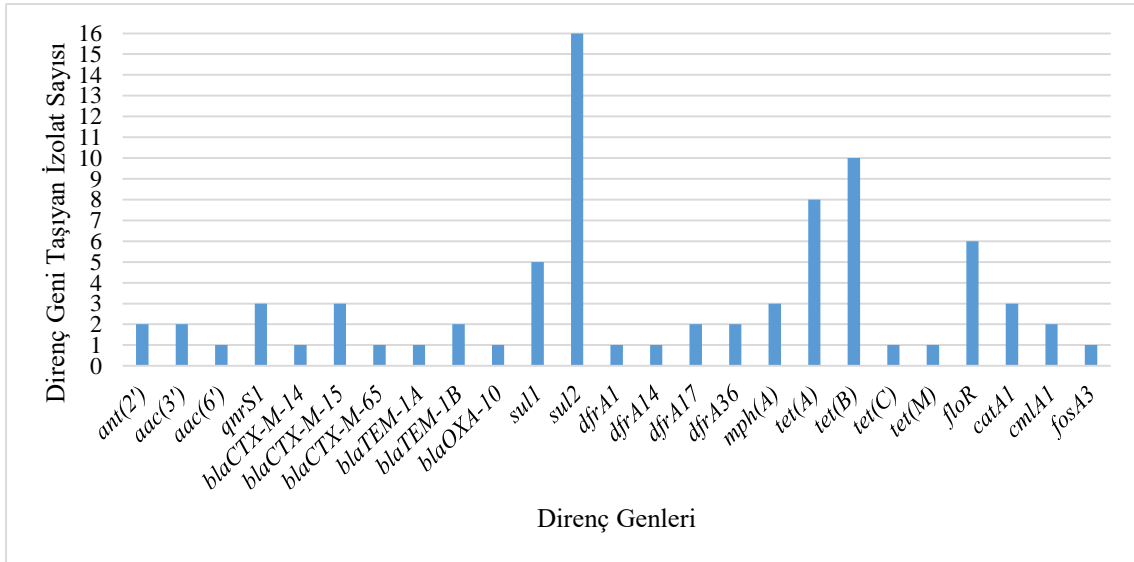
4.2. Antimikrobiyal Direnç Bulguları

Çalışmaya dahil edilen 94 adet tüm genom dizilerine (complete) sahip *E. coli* izolatlarının CGE veritabanında yer alan antimikrobiyal direnç (<http://genepi.food.dtu.dk/resfinder>) online aracı kullanılarak araştırılmıştır. Suşların 38'inin (%40.4) farklı antibiyotiklere karşı dirençli olduğu, kalan izolatların ise (%59.6) antimikrobiyal direnç taşımadığı saptanmıştır. İzolatların kinolon grubuna %47.36, beta laktam grubuna %28.95, aminoglikozid grubuna %10.52, sülfonamid grubuna %55.26, makrolid grubuna %7.89, tetrasiklin grubuna %52.63, fenikol grubuna %28.95 ve fosfomisine %2.6 oranında direnç gösterdiği saptandı. Antimikrobiyal direnç taşıyan izolatların (n=38) antibiyotiklere göre direnç durumu Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



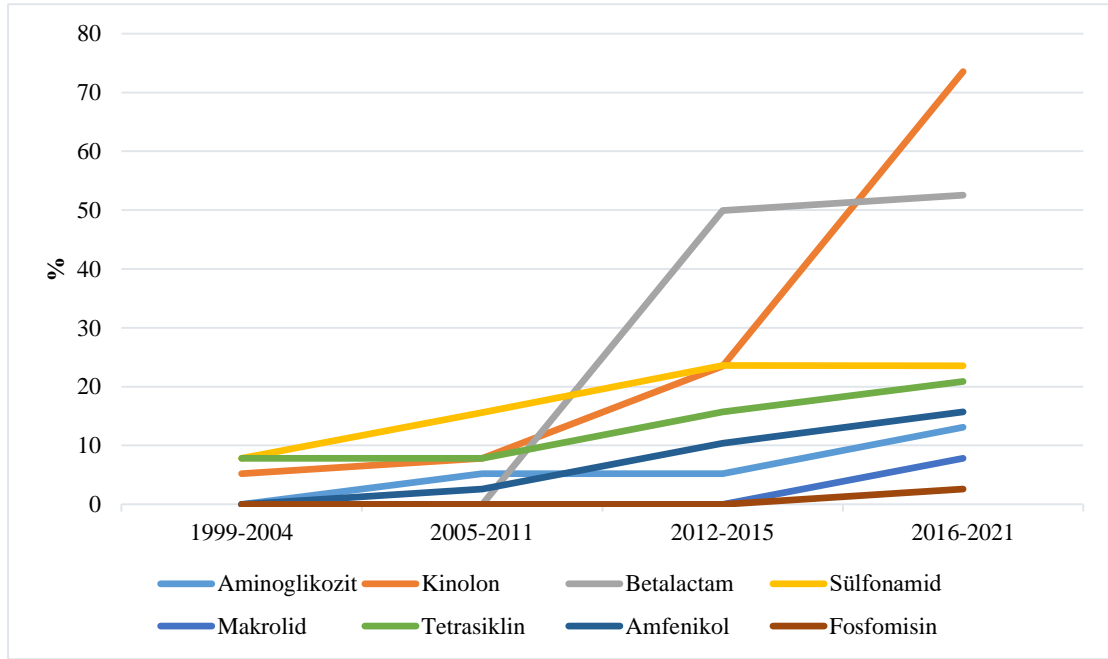
Şekil 4.1. CGE veritabanı taraması sonucunda antibiyotik dirençli olduğu saptanan 38 *E. coli* izolatının antimikrobiyal direnç profili

Çalışmaya dahil edilen 94 *E. coli* izolatının antimikrobiyal direnç geni yönünden araştırılması sonucunda 25 (%26.6) izolatın β -laktam, tetrasiklin, sulfonamid, aminoglikozid ve fenikol grubu antibiyotiklere karşı genotipik direnç taşıdığı saptanmıştır. Bu izolatlarda saptanan direnç genleri ve dağılımı Şekil 4.2’de gösterildi.

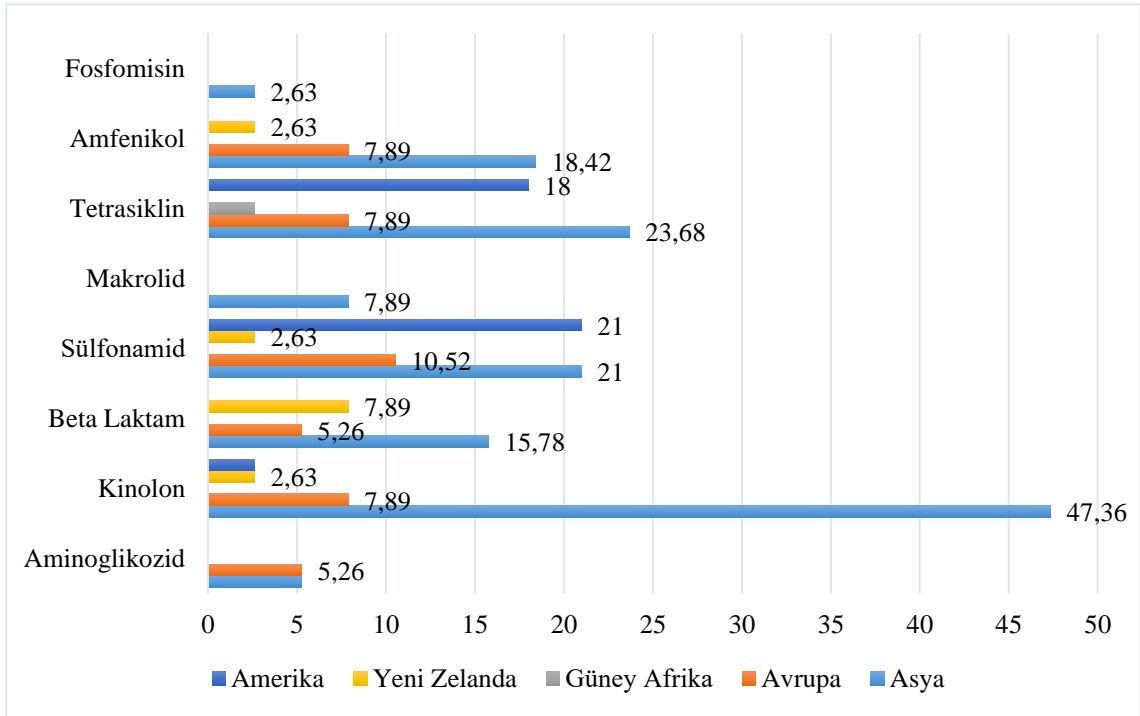


Şekil 4.2. Çalışmada antimikrobiyal direnç geni taşıdığı saptanan 25 *E. coli* izolatının antimikrobiyal direnç gen dağılımı. *ant(2')*, *aac(3')*, ve *aac(6')* aminoglikozid, *qnrS1* kinolon, *blaCTX-M*, *blaTEM* ve *blaOXA* β -laktam, *sul1*, *sul2* ve *drfA* sulfonamid, *mph(A)* makrolid, *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)* ve *tet(M)* tetrasiklin, *fosA3* fosfomisin ve *flor*, *catA1* ve *cmlA1* genleri kloramfenikol direncini göstermektedir

Antimikrobiyal direncin yıllara göre olan dağılımına bakıldığında direnç gelişiminin 2015 yılından sonra artış gösterdiği saptandı (Şekil 4.3). Kinolon direncini bu artışın en yüksek seviyede gerçekleştiği antibiyotik grubu olarak belirlendi (%73.55). Bunu beta laktam grubu antibiyotikler takip etmiştir. Antibiyotik direnci yıllara göre genel bir artış eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Kıtalar arası antimikrobiyal direnç gelişim durumu karşılaştırıldığında Asya kıtasında en yüksek kinolon, bunu tetrasiklin ve sulfonamid grubu antibiyotikler takip ederken, Amerika kıtasında sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler için en yüksek direnç oranları saptanmıştır (Şekil 4.4)



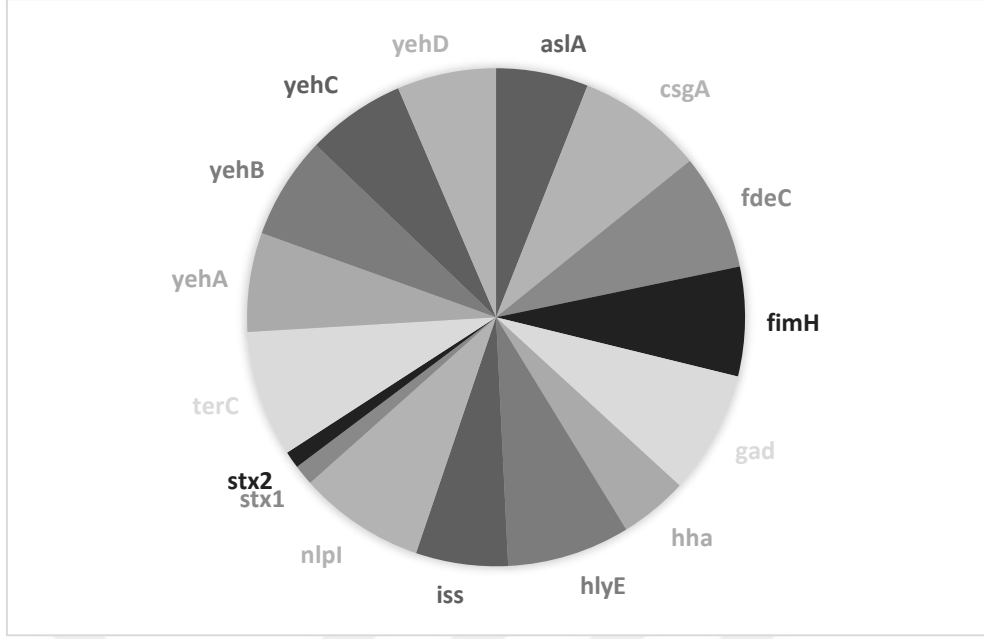
Şekil 4.3. 38 *E. coli* izolatında yıllara göre tespit edilen antibiyotik direnç durumu



Şekil 4.4. Kıtalara göre 38 *E. coli* izolatında tespit edilen antibiyotik direnç oranları

4.3. Virülans Genleri

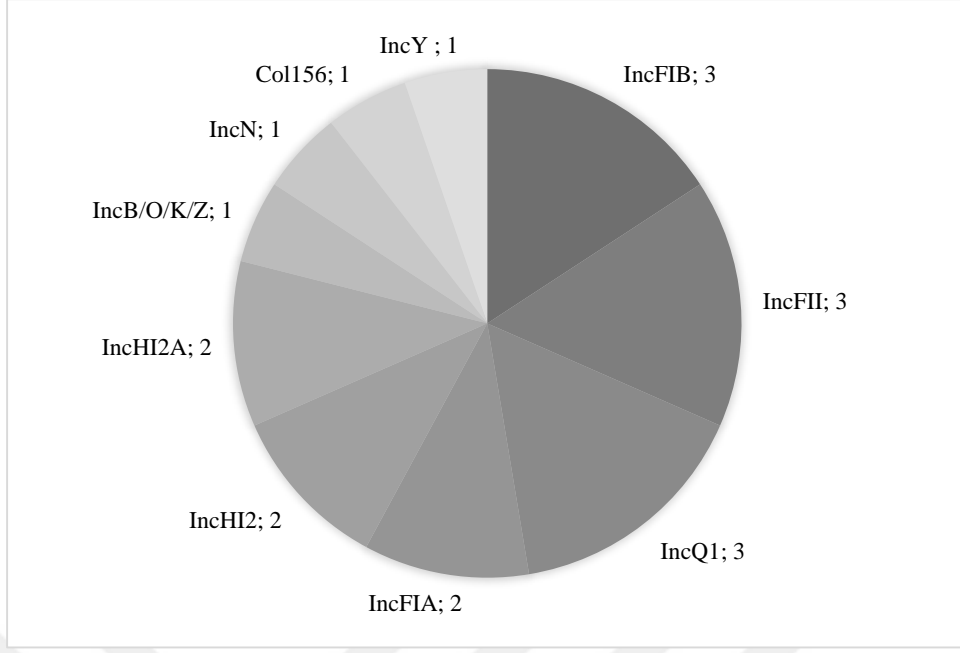
Antimikrobiyal direnç geni taşıdığı belirlenen 38 *E. coli* izolatının virülans genleri CGE veritabanından *in silico* olarak araştırılmıştır. İzolatların *aaLh*, *afaA*, *afaB*, *afaC*, *afaD*, *afaE*, *air*, *anr*, *aslA*, *astA*, *capU*, *cba*, *chuA*, *cia*, *cma*, *colE2*, *colE8*, *csgA*, *eilA*, *espP*, *espY*, *etpD*, *F17A*, *F17C*, *F17D*, *F17G*, *faeC*, *faeD*, *faeF*, *faeH*, *faeI*, *fdeC*, *fimH*, *fimh41*, *fyuA*, *gad*, *hha*, *hlyA*, *hlyE*, *hra*, *iha*, *ireA*, *irp2*, *iss*, *iucC*, *iutA*, *kpsE*, *kpsM*, *kpsMII*, *lpfA*, *mchB*, *mchC*, *mchF*, *mcmA*, *nlpI*, *ompT*, *papA*, *papC*, *sat*, *shiA*, *shiB*, *sitA*, *stx1*, *stx2*, *terC*, *tia*, *traJ*, *traT*, *yehA*, *yehB*, *yehC*, *yehD* ve *yfcV* virülans genlerinden en az birini taşıdığı saptanmıştır (Şekil 4.5). Bu virülans genlerinden en çok saptananları ise *aslA* (n=27), *csgA* (n=37), *fdeC* (n=34), *fimH* (n=32), *gad* (n=36), *hha* (n=20), *hlyE* (n=36), *iss* (n=27), *nlpI* (n=37), *terC* (n=37), *yehA* (n=29), *yehB* (n=30), *yehC* (n=29), *yehD* (n=29)'dir. İzolatlardan altısı *stx1* ve beşi *stx2* taşıdığı saptanmıştır.



Şekil 4.5. Çalışmada virülens genleri araştırılan 38 izolatın virülens gen dağılımını gösteren pasta grafiği. Çalışmada *stx1* ve *stx2* virülens geni taşıdığı saptanan izolatlar işaretlendi

4.4. Plazmid Bulguları

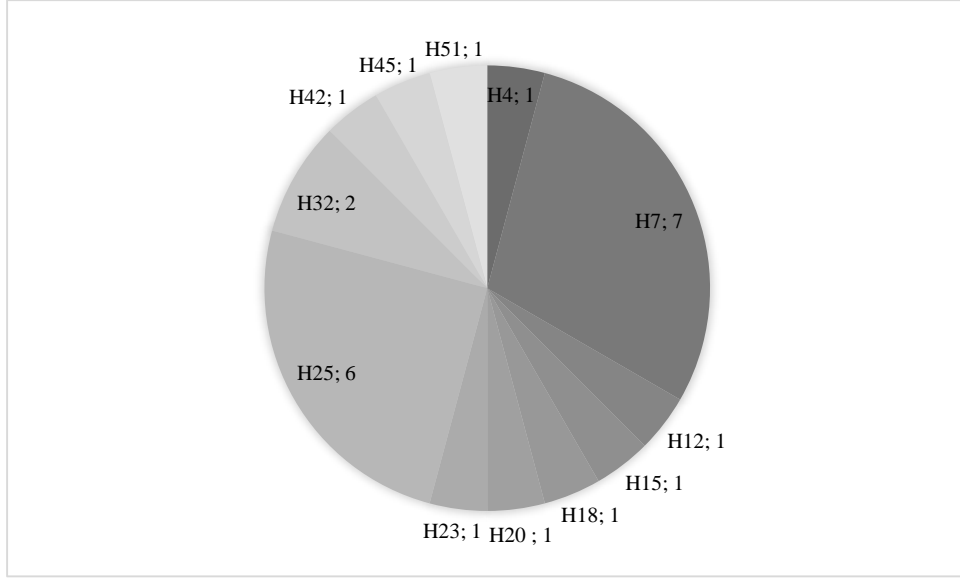
Antimikrobiyal direnç geni taşıdığı saptanan 38 izolatın plazmidlerini araştırmak amacıyla CGE üzerinde yer alan online araç kullanılmıştır. Araştırılan 38 izolatın farklı miktarlarda IncFIA, IncFIB, IncFII, IncN, IncQ1, Col156, IncB/O/K/Z, IncY, IncHI2 ve IncHI2A plazmidlerini taşıdığı saptanmıştır (Şekil 4.6). Bu izolatlardan biri IncN plazmidini hariç diğer tüm plazmidleri taşıdığı saptanmıştır.



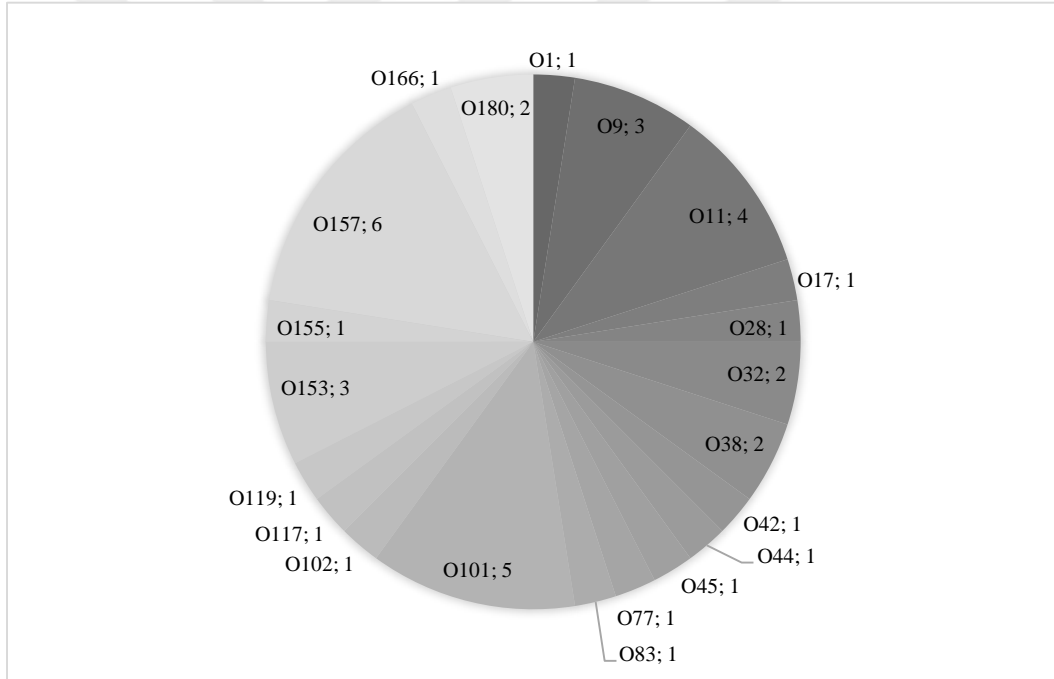
Şekil 4.6. Antimikrobiyal direnç geni taşıyan 38 izolatın plazmid içeriği. Plazmid isimleri yanında bulunan rakamlar kaç izolatta bulunduğunu ifade eder

4.5. Serotip Bulguları

Antimikrobiyal direnç geni taşıdığı saptanan 38 izolatın H ve O serotipleri için incelenmiştir. İzolatların H4, H7, H12, H15, H18, H20, H23, H25, H32, H42, H45 ve H51 serotiplerini taşıdığı saptanmıştır (Şekil 4.7). Ayrıca O serotipi açısından incelendiğinde izolatların O1, O9, O11, O17, O28, O32, O38, O42, O44, O45, O77, O83, O101, O102, O117, O119, O153, O155, O157, O166 ve O180 izolatlarını taşıdığı saptanmıştır (Şekil 4.8). Çalışmada incelenen bir izolat H ve O antijeni, üç izolat ise sadece O antijeni yönünden negatif bulunmuştur.



Şekil 4.7. Çalışmada antimikrobiyal direnç geni taşıdığı saptanan 38 *E. coli* izolatının H serotipi analizi.

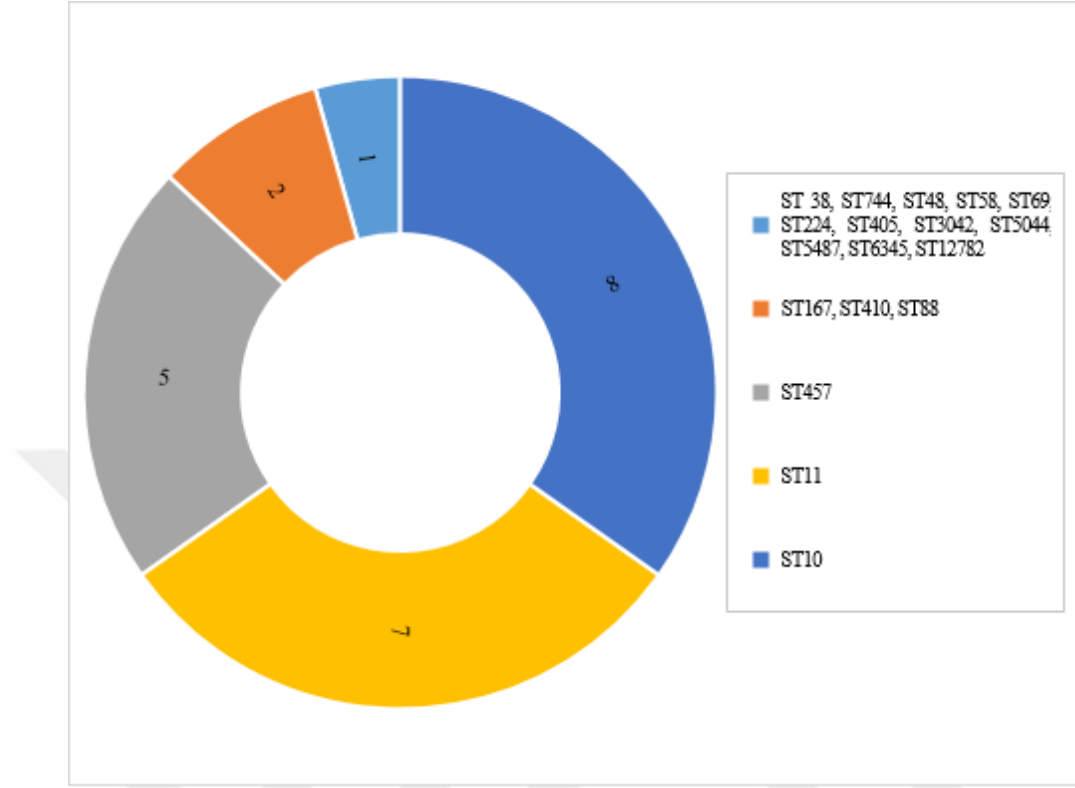


Şekil 4.8. Çalışmada antimikrobiyal direnç geni taşıdığı saptanan 38 *E. coli* izolatının O serotipi analizi.

4.6. MSLT Bulguları

38 antimikrobiyel direnç gösteren izolatların MLST yönünden sekans tipleri (ST) (<https://cge.food.dtu.dk/services/MLST/>) ilgili online araçlar kullanılarak araştırılmıştır. ST 38, ST744, ST48, ST58, ST69, ST224, ST405, ST3042, ST5044, ST5487, ST6345 ve ST12782 sekans tipleri birer izolatta belirlenmiştir. Sekiz izolatın ST10, yedi izolatın

ST11, beş izolatin ST457 ve ikişer izolatin da ST88, ST167 ve ST410 sekans tiplerine sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Antimikrobiyal direnç saptanan 38 *E. coli* izolatinın MLST analizi sonucunda sekans tiplerinin analizi. Pasta grafiği içerisindeki rakamlar o rengin ait olduğu ST sayısını ifade eder.

4.7. Filogenetik Analiz Bulguları

Antimikrobiyal direnç geni taşıyan 38 *E. coli* izolatinın tam genom filogenetik analizi sonucunda izolatların beş ana cluster gösterdiği saptanmıştır. ST457, ST11 ve ST10 sekans tipine sahip izolatlar benzer kümelerde yer almı. ST167'nin ST10 kompleks içinde yer aldığı saptanmıştır. Filogenetik ağaç üzerinde ST167'ye sahip iki izolat ST10 kümesi içerisinde yer aldı. ST3042'ye sahip bir izolat diğer izolatlardan ayrı olarak yer almıştır (Şekil 4.10).

5. TARTIŞMA

Antibiyotiklere dirençli bakteriler, patojenlerin kontrol altına alınmasını ve hastalıkların tedavisini büyük ölçüde zorlaştırmaktadır. Bu durum, bakterilerin mutasyon geçirerek mevcut ilaçları etkisiz hale getirmesiyle daha karmaşık bir hale gelmektedir. Antimikrobiyal direnç (AMR) ile mücadelede geleneksel kültür bazlı yöntemler etkili olmasına rağmen zaman alıcıdır. Bu nedenle, araştırmacılar genetik yaklaşımlar geliştirmiş ve mikroorganizmalara ait önemli genetik özellikleri belirlemek amacıyla tam genom dizileme yöntemlerine yönelmiştir (Poirel ve ark., 2018).

Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC), araştırmacılara genomik ve diğer omik veri analizlerini gerçekleştirmek için gerekli araçları ve hizmetleri sağlamaktadır. BV-BRC ekibi, antimikrobiyal dirence ve bunun genetik belirleyicilerine yönelik artan endişelere yanıt olarak, AMR'yi anlamaya yardımcı olacak yeni araçlar geliştirmiştir. BV-BRC veritabanında yer alan 15.000'den fazla genom, AMR fenotip verileriyle zenginleştirilmiş ve kamuya açık arşivlerden toplanan genom verileri ile genişletilmiştir (Olson ve ark., 2023; Wattam ve ark., 2017; Wattam ve ark., 2024).

Bu çalışmada, 1991-2021 yılları arasında farklı ülkelerdeki sığırlardan izole edilmiş tam genomları bulunan 94 *E. coli* izolatu *in silico* yöntemlerle analiz edilmiştir. Center for Genomic Epidemiology (CGE) platformunda yer alan çevrimiçi araçlar kullanılarak direnç genleri, virülens faktörleri, plazmid tipleri, serotipler ve sekans tipleri belirlenmiştir. İzolatlara ait tam genom filogenetik analizleri, BV-BRC platformundaki filogenetik ağaç oluşturma aracı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları, iTOL platformu aracılığıyla görselleştirilmiştir. Sığır kökenli 94 *E. coli* izolatının antimikrobiyal direnç profilleri değerlendirilmiş ve dirençli izolatların (%40.4) antibiyotik gruplarına göre dağılımı incelenmiştir. Bulgularımız, farklı antibiyotik gruplarına karşı direnç oranlarının oldukça değişken olduğunu göstermektedir.

Kinolonlar (%47.36), sülfonamidler (%55.26) ve tetrasiklinler (%52.63) gibi bazı antibiyotik gruplarına karşı yüksek direnç oranları gözlenirken, fosfomisin gibi (%2.6) daha düşük direnç oranlarına sahip antibiyotik grupları da tespit edilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen direnç oranları, önceki literatürle karşılaştırıldığında hem benzerlikler hem de bazı farklılıklar göstermektedir. Örneğin, Hindistan'da yapılan bir çalışmada, sığır kökenli *E. coli* izolatlarında tetrasiklin direnci %79, trimetoprim-sülfametoksazol direnci %40 olarak rapor edilmiştir (Mahmoud ve ark., 2020). Çalışmamızda, tetrasiklin direnci %52.63, sülfonamid direnci ise %55.26 olarak tespit edilmiştir. Hindistan'daki yüksek tetrasiklin direnci, antibiyotiklerin yanlış veya aşırı kullanımına bağlanabilir. Aynı şekilde, Peng ve ark. (2019) Çin'de gerçekleştirdiği çalışmada, sığır kaynaklı *E. coli* izolatlarında kinolon direnci %57.9, sülfonamid direnci %55.3 ve tetrasiklin direnci %52.6 olarak rapor edilmiştir. Bu oranlar, çalışmamızdaki sonuçlarla oldukça uyumludur. Bunun aksine Tadesse ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, sığır kaynaklı *E. coli* izolatlarında sülfonamid ve tetrasiklin direnç oranlarının sırasıyla %73.7 ve %85.5 olduğu bildirilmiştir. Bu oranlar, çalışmamızda gözlemlenen oranlardan daha yüksektir ve coğrafi farklılıkların yanı sıra antibiyotik kullanım politikalarındaki değişikliklere de işaret etmektedir.

Fosfomisin direncinin %2.6 oranında düşük olması, bu antibiyotiğin hayvancılık sektöründe daha az kullanılmasıyla açıklanabilir. Ancak, kinolonlar ve sülfonamidler gibi yaygın kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek direnç oranları, bu grupların aşırı kullanımından kaynaklanabilir (Tadesse ve ark., 2012). Özellikle kinolon grubu antibiyotikler, geniş spektrumlu etkileri nedeniyle hayvancılıkta yaygın olarak kullanılmakta ve bu durum direnç gelişimini hızlandırmaktadır. Ayrıca, Carattoli (2013) tarafından bildirilen IncF ve IncN plazmidlerinin beta-laktam direncine katkısı,

çalışmamızda beta-laktam direncinin %28.95 olarak tespit edilmesiyle desteklenmektedir.

Çalışmamızda sığır kökenli *E. coli* izolatlarında kinolon, beta-laktam ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı direnç oranları belirgin şekilde değişiklik göstermektedir. Çin'de He ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, O101:H9 serotipine sahip *E. coli* izolatlarında fosfomisin ve beta-laktam direnci rapor edilmiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada fosfomisin direnci %2,6 oranında tespit edilmiştir. Ayrıca, nalidiksik aside karşı %52,6 ve siprofloksasine karşı %57,9 oranında direnç oranları, Çin'de gerçekleştirilen çalışmalardaki kinolon direnci ile benzerlik göstermektedir (Peng ve ark., 2019).

Bu çalışmada, 25 *E. coli* izolatının (%26.6) β -laktam, tetrasiklin, sulfonamid, aminoglikozid ve fenikol grubu antibiyotiklere karşı genotipik direnç taşıdığı saptanmıştır. En yaygın bulunan genler arasında sulfonamid direnci için *sul1*, *sul2* ve *dfrA*; tetrasiklin direnci için *tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(M)*; β -laktam direnci için *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{OXA}*; aminoglikozid direnci için *aac(3')* ve *aac(6')*; makrolid direnci için ise *mph(A)* yer almıştır. Tunus'ta yapılan bir çalışmada hastane infeksiyonlarından elde edilen *E. coli* izolatlarında *bla_{CTX-M-15}*, *bla_{CTX-M-14}*, *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib-cr(8)*, *qnrB*, *qnrS*, *cmlA*, *floR*, *sul1*, *sul2*, *sul3* (Arfaoui ve ark., 2024). Benzer şekilde, Pakistan'daki yapılan bir çalışmada *bla_{CTX-M}*, *sul1*, *tet(A)* ve *mph(A)* genlerini yaygın olarak bildirmiştir (Sattar ve ark., 2024). Bu çalışmanın bulguları ile literatürde bildirilen bu genler arasındaki benzerlik, *E. coli* suşlarındaki direnç genlerinin küresel düzeyde yaygın olduğuna işaret etmektedir.

Bu çalışmada tespit edilen genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (ESBL) genleri, özellikle *bla_{CTX-M}* ve *bla_{TEM}*, çoklu antibiyotik dirençli bakterilerin rezervuarı olarak sığır kaynaklı *E. coli* izolatlarının klinik önemini vurgulamaktadır. Daha az yaygın olan *bla_{OXA}*

geninin tespiti ise karbapenemlere, genellikle son çare antibiyotiklere karşı direncin geliştiğini göstermektedir. *sul1* ve *sul2* genlerinin yüksek prevalansı (%55.3), veteriner hekimlikte sulfonamidlerin yaygın kullanımını yansıtmaktadır. Tetrasiklin direnci genleri (*tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(M)*) ise dirençli izolatların yarısından fazlasında (%52.6) görülmüştür. Aminoglikozid direnç genleri olan *aac(3')* ve *aac(6')*, gentamisin ve tobramisin gibi aminoglikozidlerin etkinliğinin azaldığını göstermektedir. Aynı direnç gen profiline sahip ancak farklı serotiplere ve sekans tiplerine (ST'ler) sahip izolatların tespit edilmesi, yatay gen transferinin direnç genlerinin yayılmasında önemli bir mekanizma olduğunu göstermektedir (Guo ve ark., 2024).

Virülens gen analizleri, *stx1* ve *stx2* gibi Shiga toksin genlerinin varlığını ortaya koymuş ve bu genlerin genellikle O157:H7 serotipine sahip izolatlarda bulunduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, Galli ve ark. (2010) tarafından bildirilen, sığırlardan elde edilen *E. coli* izolatlarındaki *stx* gen prevalansı ile tutarlıdır. Ayrıca, *stx* genlerine sahip izolatların sıklıkla tetrasiklin gibi antibiyotiklere direnç gösterdiği tespit edilmiştir.

Virülens faktörleri ile direnç genlerinin bir arada bulunması, bu izolatların zoonotik risk taşıdığını göstermektedir. Awad ve ark. (2020), sağlıklı buzağılardan izole edilen STEC suşlarının, insan sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturduğunu ve bu suşların önemli bir rezervuar olduğunu vurgulamıştır. Çalışmamız, bu bulguları desteklemekte ve insanlara bulaşabilecek potansiyel patojenlerin varlığına dikkat çekmektedir.

Mevcut çalışmada, antimikrobiyal direnç geni taşıyan *E. coli* izolatlarının plazmid içerikleri araştırılmış ve toplamda 38 izolatta farklı oranlarda IncFIA, IncFIB, IncFII, IncN, IncQ1, Col156, IncB/O/K/Z, IncY, IncHI2 ve IncHI2A plazmidlerinin taşındığı saptanmıştır. İzolatların büyük bir kısmında IncF tipi plazmidlerin (FIA, FIB ve FII) yaygın olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu, Johnson ve Nolan (2009) ile Carattoli'nin

(2013) çalışmalarıyla büyük ölçüde uyumludur. Johnson ve Nolan (2009), IncF plazmidlerinin genellikle hem virülens faktörlerini hem de antimikrobiyal direnç genlerini taşıdığına dikkat çekerken, Carattoli (2013) bu plazmidlerin özellikle klinik öneme sahip bakterilerde direnç genlerinin yayılmasındaki merkezi rolünü vurgulamaktadır.

Carattoli'ye (2013) göre, IncF plazmidleri, genellikle beta-laktamazlar (örneğin, *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}*) ve aminoglikozid direnç genleri gibi çoklu direnç genlerini taşıyan mobil genetik elemanları içerir. Bu çalışmada da IncF tipi plazmidlerin sıkça saptanması, bu plazmidlerin *E. coli* izolatlarında direnç genlerinin taşınması ve yayılmasındaki rolünü doğrular niteliktedir. Ayrıca, IncF plazmidlerinin konak adaptasyonuna özel bir rol oynadığı ve genellikle belirli bir bakteri türünde stabil kaldığı belirtilmiştir. Bu durum, IncF plazmidlerinin bu çalışmada yüksek sıklıkla bulunmasını açıklayabilir. Bunun yanında, çalışmamızda IncHI2 ve IncHI2A gibi büyük moleküler ağırlıklı plazmidlerin de izolatlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu plazmidler, geniş konak yelpazesi ve çoklu direnç genlerini taşıma kapasiteleriyle bilinir. Johnson ve Nolan (2009), bu plazmidlerin yatay gen transferi yoluyla direnç genlerini farklı türlere taşıyabileceğini belirtirken, Carattoli (2013) bu plazmidlerin özellikle karbapenem ve geniş spektrumlu beta-laktamlara karşı direnç genlerini taşımadaki önemine dikkat çekmektedir. Bu plazmidlerin çalışmamızda bazı izolatlarda bulunması, bu genetik elemanların antimikrobiyal direnç yayılımındaki kritik rolünü bir kez daha ortaya koymaktadır. Ayrıca, Col156 ve IncQ1 gibi küçük plazmidlerin de izolatlarda bulunması, direnç genlerinin taşınmasında sadece büyük plazmidlerin değil, aynı zamanda küçük plazmidlerin de önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Carattoli (2013), küçük plazmidlerin genellikle mobil genetik elemanlar olarak hareket ettiğini ve büyük plazmidlerle birlikte direnç genlerinin yatay transferinde önemli bir rol oynayabileceğini

belirtmiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde, küçük plazmidlerin bazı direnç genlerini taşıdığı tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmada 38 antibiyotik dirençli *E. coli* izolatu üzerinde yapılan çok lokuslu sekans tipi (MLST) analizi sonucunda, ST10, ST11 ve ST457'nin baskın sekans tipleri olduğu bulunmuştur. ST10'un, sekiz izolat ile en yaygın sekans tipi olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, ST167, ST410 ve ST88 gibi sekans tipleri de belirli izolatlarda saptanmıştır. Filogenetik analiz sonuçları, ST10 ve ST167'nin genetik olarak yakın bir kompleks oluşturduğunu göstermektedir. Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) izolatları ile ilgili yapılan bir çalışmada ST10'un sığırlarda kalıcı kolonizasyon türü olarak sıkça bulunduğu rapor edilmiştir (Barth ve ark., 2016). Bu ST10'un zoonotik geçişte önemli bir rol oynayabileceği vurgulanmıştır (Ali ve ark., 2021). Benzer şekilde, Messele ve ark. (2023) çalışmasında da ST10'un hem hayvan hem de insan kaynaklı izolatlarda yaygın olduğu ve diğer patojenik *E. coli* ST'leri ile filogenetik olarak ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda ST167'nin ST10 kümesi içinde yer alması, Messele ve ark. (2023) çalışması ile benzerlik göstermektedir. ST10, zoonotik geçiş potansiyelini artıran virülens faktörleri ve antibiyotik direnç genlerini taşıması nedeniyle halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

ST11 ve ST457, çalışmamızda ikinci ve üçüncü en yaygın sekans tipleri olarak belirlenmiştir. Barth et al. (2016) çalışmasında ST11'in sığır kaynaklı STEC izolatlarında sıkça tespit edildiği ve bu izolatların zoonotik potansiyel taşıdığı bildirilmiştir. ST457'nin ise daha az yaygın olmasına rağmen, antibiyotik direnç genleri ile ilişkilendirildiği ve sığır gibi hayvan rezervuarlarında kalıcılık gösterebildiği bilinmektedir. Filogenetik analizlerimizde, ST10, ST167 ve ST11 gibi sekans tiplerinin benzer kümeler oluşturduğu ve bu kümelerin genetik olarak birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir. Barth ve ark. (2016) ve Messele ve ark. (2023) çalışmalarında, bu sekans tiplerinin genetik uyumu ve

evrimsel benzerliği vurgulanmıştır. Özellikle ST167'nin ST10 ile olan yakın ilişkisi, bu tiplerin genetik materyal paylaşımı yoluyla direnç genlerini hızlı bir şekilde yayma potansiyeline işaret etmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, sığır kaynaklı *Escherichia coli* izolatları üzerinde yapılan genotipik ve filogenetik analizler sonucunda, ST10, ST11 ve ST457'nin baskın sekans tipleri olduğu belirlenmiştir. ST10'un, gerek çalışma bulgularında gerekse literatürde yaygın bir şekilde tespit edilmesi, bu sekans tipinin direnç genlerini taşıma kapasitesi ve genetik stabilitesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, ST167 gibi sekans tiplerinin ST10 kümesi içinde yer alması, bu türlerin genetik materyal paylaşımı ve antibiyotik direnç genlerinin yayılımı açısından önemli bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. Antibiyotik direnç genlerinin tespitinde özellikle *blaCTX-M*, *sul1/sul2*, *tet(A/B)* ve *aac(3')* gibi genlerin sıkça bulunması, bu genlerin hayvan rezervuarlarında antibiyotik kullanımına bağlı olarak seçim baskısına maruz kaldığını göstermektedir.

Filogenetik analizler, sığır kaynaklı izolatların genetik benzerlikler gösterdiğini ve belirli kümeler oluşturduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, *E. coli* izolatlarının küresel düzeyde yayılma potansiyeline ve zoonotik geçiş riskine işaret etmektedir. Aynı zamanda, nadir görülen sekans tiplerinin (ör. ST3042 ve ST12782) genetik izolasyonu, bu izolatların direnç genlerini taşıma potansiyeline rağmen daha sınırlı bir yayılım gösterdiğini düşündürmektedir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda,

- Sığır gibi hayvan rezervuarlarından elde edilen *E. coli* izolatlarında yaygın sekans tiplerinin ve direnç genlerinin tespiti için düzenli genetik izleme programları uygulanmalıdır. Bu hem halk sağlığı açısından hem de hayvan sağlığı yönetimi için erken uyarı sistemi oluşturabilir.
- Hayvancılık sektöründe gereksiz antibiyotik kullanımını azaltmak ve alternatif tedavi yöntemlerini teşvik etmek için ulusal ve uluslararası düzenlemeler artırılmalıdır. Antibiyotik kullanımındaki bu tür kısıtlamalar, dirençli bakteri türlerinin yayılmasını kontrol altına alabilir.

- Çalışma bulgularına dayanarak, *E. coli* izolatlarında sıkça tespit edilen direnç genleri dikkate alınarak hedefe yönelik antimikrobiyal tedavi stratejileri geliştirilmelidir. Örneğin, ST10 gibi yaygın sekans tiplerine sahip izolatların direnç profilleri göz önüne alınarak bölgeye özel tedavi yaklaşımları uygulanabilir.
- İnsan ve hayvan sağlığı arasındaki bağlantıyı dikkate alan bir "Tek Sağlık" yaklaşımı benimsenmelidir. Bu bağlamda, hayvanlardan insanlara bulaşabilecek patojenlerin kontrolü için çiftlik yönetimi, hijyen ve denetim standartları geliştirilmelidir.
- *E. coli* sekans tiplerinin ve direnç genlerinin küresel yayılımını anlamak için uluslararası veri paylaşım platformlarının etkin kullanımı teşvik edilmelidir. Özellikle, ST10 gibi yaygın sekans tiplerinin dünya genelindeki yayılım dinamiklerinin izlenmesi önem arz etmektedir.
- ST10, ST11 ve ST457 gibi baskın sekans tiplerinin genetik yapısını ve yayılımını daha iyi anlamak için ileri düzey genetik ve moleküler çalışmalar yapılmalıdır. Özellikle, bu türlerin taşıdığı plazmidler ve direnç genleri arasındaki ilişki detaylı olarak incelenmelidir.
- Sığır kaynaklı *E. coli* izolatlarında yaygın sekans tiplerini ve direnç genlerini anlamak için önemli bir adım olmuştur. Ancak, bu bulguların halk sağlığı ve hayvan sağlığı açısından anlamlı sonuçlara dönüşmesi için önerilen önlemlerin alınması ve uluslararası iş birliğinin güçlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Achtman, M., Wain, J., Weill, F. X., Nair, S., Zhou, Z., Sangal, V., & S. Enterica MLST Study Group. (2012). Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PloS Pathogens*, 8(6), e1002776. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002776>
- Adiri, R. S., Gophna, U., & Ron, E. Z. (2003). Multilocus sequence typing (MLST) of *Escherichia coli* O78 strains. *FEMS Microbiology Letters*, 222(2), 199-203. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00295-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00295-7)
- Ahmed, M. O., Clegg, P. D., Williams, N. J., Baptiste, K. E., & Bennett, M. (2010). Antimicrobial resistance in equine faecal *Escherichia coli* isolates from North West England. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9, 1-7. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-12>
- Ali, A., Fontana, H., Sano, E., Li, R., Humayon, M., Rahman, S., ... & Mohsin, M. (2021). Genomic features of a high-risk *mcr-1.1*-positive *Escherichia coli* ST10 isolated from cattle farm environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(38), 54147-54152. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15437-6>
- Allen, R. C., Popat, R., Diggle, S. P., & Brown, S. P. (2014). Targeting virulence: can we make evolution-proof drugs?. *Nature Reviews Microbiology*, 12(4), 300-308. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3232>
- Arfaoui, A., Martínez-Álvarez, S., Abdullahi, I. N., Fethi, M., Sayem, N., Melki, S. B. K., ... & Klibi, N. (2024). Surveillance of Enterobacteriaceae from diabetic foot infections in a tunisian hospital: detection of *E. coli*-ST131-bla CTX-M-15 and *K. pneumoniae*-ST1-blaNDM-1 strains. *Microbial Drug Resistance*, 30(8):341-349. <https://doi.org/10.1089/mdr.2023.0335>

- Awad, W. S., El-Sayed, A. A., Mohammed, F. F., Bakry, N. M., Abdou, N. E. M., & Kamel, M. S. (2020). Molecular characterization of pathogenic *Escherichia coli* isolated from diarrheic and in-contact cattle and buffalo calves. *Tropical Animal Health and Production*, 52, 3173-3185. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02343-1>
- Aydın, N., İzgür, M., Diker, K. S., Yardımcı, H., Esendal, Ö., Paracıkoğlu, J., & Akan, M. (2006). Veteriner mikrobiyoloji (Bakteriyel hastalıklar). *Ankara: İlke-Emek Matbaacılık ve Yayıncılık*, 145-163.
- Barth, S. A., Menge, C., Eichhorn, I., Semmler, T., Wieler, L. H., Pickard, D., ... & Geue, L. (2016). The accessory genome of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* defines a persistent colonization type in cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(17), 5455-5464. <https://doi.org/10.1128/AEM.00909-16>
- Basavaraju, M., & Gunashree, B. S. (2022). *Escherichia coli*: An overview of main characteristics. *Escherichia coli. Old and New Insights*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.105508>
- Beutin, L. (2006). Emerging enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, causes and effects of the rise of a human pathogen. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 53(7), 299-305. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2006.00968.x>
- Bilgehan, H. (2000). *Klinik mikrobiyoloji özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları*. Baris Yayinlari Fakulteler Kitabevi.
- Blanco, M., Blanco, J. E., Mora, A., Dahbi, G., Alonso, M. P., González, E. A., & Blanco, J. (2004). Serotypes, virulence genes, and intimin types of shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene (eae). *Journal of Clinical Microbiology*, 42(2), 645-651. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.2.645-651.2004>

- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969-976. <https://doi.org/10.1128/aac.01009-09>
- Carattoli, A. (2013). Plasmids and the spread of resistance. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6-7), 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.001>
- Carlos Guimaraes, L., Benevides de Jesus, L., Vinicius Canario Viana, M., Silva, A., Thiago Juca Ramos, R., de Castro Soares, S., & Azevedo, V. (2015). Inside the pan-genome-methods and software overview. *Current Genomics*, 16(4), 245-252. <https://doi.org/10.2174/1389202916666150423002311>
- Cengiz, S., & Adıgüzel, M. C. (2020). Determination of virulence factors and antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from calf diarrhea, part of eastern Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 67(4), 365-371. <https://doi.org/10.33988/auvfd.640990>
- Cirit, O. S., Fernández-Martínez, M., Yayla, B., & Martínez-Martínez, L. (2019). Aminoglycoside resistance determinants in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from Turkish and Syrian patients. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 66(3), 327-335. <https://doi.org/10.1556/030.66.2019.005>
- Cormican, M., & Vellinga, A. (2012). Existing classes of antibiotics are probably the best we will ever have. *BMJ*, 344. <https://doi.org/10.1136/bmj.e3369>
- Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infection and Drug Resistance*, 12, 3903-3910. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>

- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, *19*(1), 37-54. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0416-x>
- Duan, Y., Gao, H., Zheng, L., Liu, S., Cao, Y., Zhu, S., Wu, Z., Ren, H., Mao, D. & Luo, Y. (2020). Antibiotic resistance and virulence of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) vary according to molecular types. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 598305. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.598305>
- Durmaz, R., Eser, Ö., & Otlu B., (Eds.). (2022). *Moleküler Mikrobiyoloji Tanı ve Epidemiyoloji*. Akademisyen Kitabevi. <https://doi.org/10.37609/akya.2149>
- Ejaz, H., Younas, S., Abosalif, K. O., Junaid, K., Alzahrani, B., Alsrhani, A., Abdalla, A. E., Ullah, M. I., Qamar, M. U., & Hamam, S. S. (2021). Molecular analysis of bla_{SHV}, bla_{TEM}, and bla_{CTX-M} in extended-spectrum β-lactamase producing Enterobacteriaceae recovered from fecal specimens of animals. *PLoS One*, *16*(1), e0245126. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245126>
- Elmonir, W., Shalaan, S., Tahoun, A., Mahmoud, S. F., Remela, E. M. A., Eissa, R., & Zahran, R. N. (2021). Prevalence, antimicrobial resistance, and genotyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods of cattle origin, diarrheic cattle, and diarrheic humans in Egypt. *Gut Pathogens*, *13*, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13099-021-00402-y>
- Enright, M. C., & Spratt, B. G. (1999). Multilocus sequence typing. *Trends in Microbiology*, *7*(12), 482-487.
- Erb, A., Stürmer, T., Marre, R., & Brenner, H. (2007). Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli*: overview of geographical, temporal, and methodological variations. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, *26*, 83-90. <https://doi.org/10.1007/s10096-006-0248-2>

- Galli, L., Miliwebsky, E., Irino, K., Leotta, G., & Rivas, M. (2010). Virulence profile comparison between LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from cattle and humans. *Veterinary Microbiology*, *143*(2-4), 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.11.028>
- Gaynes, R. (2017). The discovery of penicillin—new insights after more than 75 years of clinical use. *Emerging Infectious Diseases*, *23*(5), 849. <https://doi.org/10.3201/eid2305.161556>
- Gebregiorgis, A., & Tessema, T. S. (2016). Characterization of *Escherichia coli* isolated from calf diarrhea in and around Kombolcha, South Wollo, Amhara Region, Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, *48*, 273-281. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0946-9>
- Guo, Y., Xiao, R., Feng, J., Wang, X., Lai, J., Kang, W., ... & Wang, Y. (2024). Distribution of virulence genes and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from hospitalized neonates: A multi-center study across China. *Heliyon*, *10*(16). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35991>
- He, W. Y., Zhang, X. X., Gao, G. L., Gao, M. Y., Zhong, F. G., Lv, L. C., ... & Liu, J. H. (2021). Clonal spread of *Escherichia coli* O101: H9-ST10 and O101: H9-ST167 strains carrying *fosA3* and *bla_{CTX-M-14}* among diarrheal calves in a Chinese farm, with Australian *Chroicocephalus* as the possible origin of *E. coli* O101: H9-ST10. *Zoological Research*, *42*(4), 461. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2021.153>
- Her, H. L., & Wu, Y. W. (2018). A pan-genome-based machine learning approach for predicting antimicrobial resistance activities of the *Escherichia coli* strains. *Bioinformatics*, *34*(13), i89-i95. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty276>

- Holmes, A. H., Moore, L. S., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., Guerin P. J., & Piddock, L. J. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, 387(10014), 176-187. [https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00473-0](https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00473-0)
- Hossain, M. S., Rahman, W., Ali, M. S., Sultana, T., & Hossain, K. M. M. (2021). Identification and antibiogram assay of *Escherichia coli* isolated from chicken eggs. *Journal of Bio-Science*, 29(1), 123-133. <https://doi.org/10.3329/jbs.v29i0.54828>
- Jiang, H., Cheng, H., Liang, Y., Yu, S., Yu, T., Fang, J., & Zhu, C. (2019). Diverse mobile genetic elements and conjugal transferability of sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2*, and *sul3*) in *Escherichia coli* isolates from *Penaeus vannamei* and pork from large markets in Zhejiang, China. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1787. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01787>
- Johnson, J. R., & Russo, T. A. (2018). Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *EcoSal Plus*, 8(1), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus-0004-2017>
- Johnson, T. J., & Nolan, L. K. (2009). Pathogenomics of the virulence plasmids of *Escherichia coli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 73(4), 750-774. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00015-09>
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 423-435. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2333>

- Kong, K. F., Schneper, L., & Mathee, K. (2010). Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *APMIS*, *118*(1), 1-36. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2009.02563.x>
- Kotłowski, R., Grecka, K., Kot, B., & Szweda, P. (2020). New approaches for *Escherichia coli* genotyping. *Pathogens*, *9*(2), 73. <https://doi.org/10.3390/pathogens9020073>
- Leichert, L. I. (2011). Proteomic methods unravel the protein quality control in *Escherichia coli*. *Proteomics*, *11*, 3023-3035. <https://doi.org/10.1002/pmic.201100082>
- Li, Q., Li, Z., Wang, Y., Chen, Y., Sun, J., Yang, Y., & Si, H. (2022). Antimicrobial resistance and transconjugants characteristics of *sul3* positive *Escherichia coli* isolated from animals in Nanning, Guangxi province. *Animals*, *12*(8), 976. <https://doi.org/10.3390/ani12080976>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2012). Cell structure and function in bacteria and archaea. *Brock Biology of Microorganisms*, *49*.
- Mahmoud, A., Mittal, D., Filia, G., Ramneek, V., & Mahajan, V. (2020). Prevalence of antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* faecal isolates of cattle. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *9*(3), 1850-1859. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.903.214>
- Manges, A. R., Geum, H. M., Guo, A., Edens, T. J., Fibke, C. D., & Pitout, J. D. (2019). Global extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) lineages. *Clinical Microbiology Reviews*, *32*(3), e00135-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00135-18>
- Marchant, M., Vinué, L., Torres, C., & Moreno, M. A. (2013). Change of integrons over time in *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pigs and chickens.

<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.12.011>

Medini, D., Donati, C., Tettelin, H., Massignani, V., & Rappuoli, R. (2005). The microbial pan-genome. *Current Opinion in Genetic Development*, 15(6), 589-594.

<https://doi.org/10.1016/j.gde.2005.09.006>.

Mendelson, M., & Matsoso, M. P. (2015). Guest Editorial: The world health organization global action plan for antimicrobial resistance. *South African Medical Journal*, 105(5), 325-325. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.9644>

Minodier, P. (2011). *Escherichia coli* [esh"ə-rik'e-ə co'ī]. *Eurosurveillance*, 16, 19815.

<https://doi.org/10.3201/eid2108.ET2108>

Mitsuda, T., Muto, T., Yamada, M., Kobayashi, N., Toba, M., Aihara, Y., & Yokota, S.

(1998). Epidemiological study of a food-borne outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli* O25: NM by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(3), 652-656. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.3.652-656.1998>

Nowaczek, A., Dec, M., Stępień-Pyśniak, D., Urban-Chmiel, R., Marek, A., & Róžański, P. (2021). Antibiotic resistance and virulence profiles of *Escherichia coli* strains

isolated from wild birds in Poland. *Pathogens*, 10(8), 1059.

<https://doi.org/10.3390/pathogens10081059>

Olson, R. D., Assaf, R., Brettin, T., Conrad, N., Cucinell, C., Davis, J. J., Dempsey, D.

M., Dickerman, A., & Stevens, R. L. (2023). Introducing the bacterial and viral bioinformatics resource center (BV-BRC): a resource combining PATRIC, IRD and ViPR. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D678-D689.

<https://doi.org/10.1093/nar/gkac1003>

- Omerovic, M., Müştak, H. K., & Kaya, İ. B. (2017). *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 28(1), 1-6. <https://doi.org/10.35864/evmd.530084>
- Pakbin, B., Brück, W. M., & Rossen, J. W. (2021). Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9922. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
- Palaniappan, R. U., Zhang, Y., Chiu, D., Torres, A., DebRoy, C., Whittam, T. S., & Chang, Y. F. (2006). Differentiation of *Escherichia coli* pathotypes by oligonucleotide spotted array. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(4), 1495-1501. <https://doi.org/10.1128/jcm.44.4.1495-1501.2006>
- Parreira, V. R., & Gyles, C. L. (2003). A novel pathogenicity island integrated adjacent to the thrW tRNA gene of avian pathogenic *Escherichia coli* encodes a vacuolating autotransporter toxin. *Infection and Immunity*, 71(9), 5087-5096.
- Pavón, A. B., & Maiden, M. C. (2009). Multilocus sequence typing. *Molecular Epidemiology of Microorganisms: Methods and Protocols*, 551, 129-140. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-999-4_11
- Peng, Z., Liang, W., Hu, Z., Li, X., Guo, R., Hua, L., & Wu, B. (2019). O-serogroups, virulence genes, antimicrobial susceptibility, and MLST genotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from swine and cattle in Central China. *BMC Veterinary Research*, 15, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2177-1>
- Pereira, R. V., Foditsch, C., Siler, J. D., Dulièpre, S. C., Altier, C., Garzon, A., & Warnick, L. D. (2020). Genotypic antimicrobial resistance characterization of *E. coli* from dairy calves at high risk of respiratory disease administered enrofloxacin or tulathromycin. *Scientific Reports*, 10(1), 19327. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76232-w>

- Pérez-Losada, M., Arenas, M., & Castro-Nallar, E. (2018). Microbial sequence typing in the genomic era. *Infection, Genetics and Evolution*, *63*, 346-359. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.09.022>
- Pitout, J. D. (2012). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: a combination of virulence with antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, *3*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00009>
- Poirel, L., Madec, J. Y., Lupo, A., Schink, A. K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, *6*(4), 10-1128. <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
- Riley, L. W. (2020). Distinguishing pathovars from nonpathovars: *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, *8*(4), 8-4. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.AME-0014-2020>
- Sattar, F., Hu, X., Saxena, A., Mou, K., Shen, H., Ali, H., ... & Li, G. (2024). Analyzing antibiotic resistance in bacteria from wastewater in Pakistan using whole-genome sequencing. *Antibiotics*, *13*(10), 937. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13100937>
- Shaheen, B. W., Oyarzabal, O. A., & Boothe, D. M. (2010). The role of class 1 and 2 integrons in mediating antimicrobial resistance among canine and feline clinical *E. coli* isolates from the US. *Veterinary Microbiology*, *144*(3-4), 363-370. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.01.018>
- Smith, R., & Coast, J. (2013). The true cost of antimicrobial resistance. *BMJ*, *346*, f1493. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1493>
- Sora, V. M., Meroni, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L., & Zecconi, A. (2021). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens*, *10*(11), 1355. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111355>

- Spagnolo, F., Rinaldi, C., Sajorda, D. R., & Dykhuizen, D. E. (2016). Evolution of resistance to continuously increasing streptomycin concentrations in populations of *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *60*(3), 1336-1342. <https://doi.org/10.1128/aac.01359-15>
- Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. J., & McDermott, P. F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerging Infectious Diseases*, *18*(5), 741–749. <https://doi.org/10.3201/eid1805.111153>
- Tan Duc Nguyen, T. D. N., Thin Thanh Vo, T. T. V., & Hung Vu Khac, H. V. K. (2011). Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Vietnam. <https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.2.159>
- Tang, K. W. K., Millar, B. C., & Moore, J. E. (2023). Antimicrobial resistance (AMR). *British Journal of Biomedical Science*, *80*, 11387. <https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11387>
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American Journal of Medicine*, *119*(6), S3-S10. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.03.011>
- Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stępień-Pyśniak, D., Wieczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., & Osek, J. (2022). Antibiotic resistance in bacteria—A review. *Antibiotics*, *11*(8), 1079. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081079>
- Ustaçelebi, Ş. (1999). Temel ve klinik mikrobiyoloji. Güneş kitabevi.
- Wattam, A. R., Bowers, N., Brettin, T., Conrad, N., Cucinell, C., Davis, J. J., & Warren, A. S. (2024). Comparative Genomic Analysis of Bacterial Data in BV-BRC: An Example Exploring Antimicrobial Resistance. Setubal, J. C., Stadler, P. F., Stoye,

J. *Comparative Genomics: Methods and Protocols* (547-571). New York, NY: Springer US.

Wattam, A. R., Davis, J. J., Assaf, R., Boisvert, S., Brettin, T., Bun, C., Conrad, N., Dietrich, E. M., Disz, T., Gabbard, J. L., & Stevens, R. L. (2017). Improvements to PATRIC, the all-bacterial bioinformatics database and analysis resource center. *Nucleic Acids Research*, 45 (D1), D535-D542. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1017>

Wright, G. D. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1451-1470. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.002>.

Zueter, A. M., Mharib, T., Shqair, D., Al-Tamimi, M., Sawan, H. M., Zaiter, A., & Albalawi, H. (2024). Multi-locus sequence typing of *Escherichia coli* isolated from clinical samples in Jordan. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 18(04), 571-578. <https://doi.org/10.3855/jidc.18810>

EKLER

EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Esengül UZUN
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Veterinerlik Mikrobiyolojisi
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	%8	% 15
II. Genel Bilgiler	%7	% 35
III. Materyal ve Metod	%5	% 35
IV. Bulgular	%5	% 15
V. Tartışma	%2	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
Birim Etik Kurul Kararı

Karar Sayısı : 2023 / 23

Karar Tarihi : 13 / 07 / 2023

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr. Mehmet Cemal ADIGÜZEL'in yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütülecek olan **"Tam Genom Dizileri PATRIC Veritabanında Yer Alan Escherichia coli İzolatlarının Tiplendirilmesi"** isimli Yüksek Lisans Tezi çalışması ile ilgili Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Klinik Öncesi Bilimler Bölüm Başkanlığının 26.05.2023 tarihli ve E-36643897-000-2300163570 sayılı yazısı ve ekindeki Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Birim Etik Kurulu (AÜVFBEK) Başvuru Formu, Taahhütname ve Çalışma İzin yazısı belgeleri Kurulumuz tarafından değerlendirilmiştir.

Yapılan değerlendirmede; adı geçen Yüksek Lisans Tezi çalışmasının yürütülmesinin, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ilkesine **UYGUN** olduğuna, Taahhütname hükümlerine göre, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, alınan kararın Rektörlük Makamına (Hukuk Müşavirliğine) ve ilgili öğretim üyesine bildirilmesine, mevcut oy birliği ile karar verilmiştir.