

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇİĞ SÜT ÖRNEKLERİNDE *ESCHERİCHİA COLİ* PREVALANSININ
VE ÜROPATOJENİK *ESCHERİCHİA COLİ* (UPEC) VİRÜLANS GENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Aynur AKAN

Biyoloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Seval CİNG YILDIRIM

HAZİRAN 2025

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇİĞ SÜT ÖRNEKLERİNDE *ESCHERİCHİA COLI* PREVALANSININ VE
ÜROPATOJENİK *ESCHERİCHİA COLI* (UPEC) VİRÜLANS
GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Aynur AKAN
(36223611909)

Biyoloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Seval CİNG YILDIRIM
Doç. Dr. Zeynep YEĞİN

HAZİRAN 2025

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Çiğ süt örneklerinde *Escherichia coli* prevalansının ve
Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC) virülans genlerinin
araştırılması

Tezi Hazırlayan: Aynur AKAN
Yüksek Lisans Tezi



TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar geçen tüm süreçte, bilgi birikimi, tecrübesi ve her daim hissedilen desteğiyle yoluma ışık tutan, yalnızca akademik değil, insani yönüyle de bana rehberlik eden, her zaman sevgi, samimiyet ve içtenliğiyle yanımda olan, bana bir yol arkadaşı ve ilham kaynağı olan değerli danışmanım Doç. Dr. Seval CİNG YILDIRIM'a

Tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle katkı sağlayan, yönlendirmeleri ve destekleyici tutumuyla sürece değer katan, sürece hem akademik hem de bilimsel anlamda katkı sunan eş danışman hocam Doç. Dr. Zeynep YEĞİN'e

Araştırmanın her aşamasında, özellikle de moleküler analizlerde verdiği teknik destek, yönlendirme ve kıymetli deneyim paylaşımlarıyla çalışmanın bilimsel temellerini sağlamlaştırmada büyük rol oynayan Sinop Üniversitesi'nden Dr. Öğr. Üyesi Cumhur AVŞAR'a

Laboratuvar çalışmalarım boyunca laboratuvarını, cihazlarını ve malzeme desteğini cömertçe paylaşan; sunduğu imkânlar ve sağladığı çalışma ortamı sayesinde tezimin laboratuvar aşamasını sorunsuz ve verimli şekilde tamamlayabilmemde ve sürecin sağlıklı ilerlemesinde büyük katkı sağlayan Prof. Dr. Dilek ASMA'ya

Çalışmam boyunca süt örneklerinin toplanmasından laboratuvar uygulamalarına kadar uzanan tüm süreçte yanımda olan, destekleriyle sürecin verimli ilerlemesine katkı sağlayan; aynı zamanda bu zorlu yolculukta dostluklarıyla moral olan, sevgili arkadaşlarım İkra ERMİŞ'e ve Sefa ÖLMEZ'e

Bu çalışmanın yürütülmesi sürecinde, çiğ süt örneklerinin temininde sağladıkları değerli katkılardan dolayı Kenan CİNG ve Doktora öğrencisi Ahmet Faruk CEYLAN'a

Bu tez çalışmasını FCD-2024-3513 nolu çok disiplinli (ÇAP) araştırma projesi olarak destekleyen BAP'a,

Tez sürecinin her anında, maddi ve manevi olarak beni koşulsuz destekleyen, sabırları, sevgileri, duaları ve sarsılmaz inançlarıyla her adımda yanımda olduklarını hissettiren, varlıklarıyla gücümün ve kararlılığımın en büyük kaynağı olan Değerli Aileme

Ve son olarak... Tüm zorluklarda, her stresli anda yanımda olan; yalnızca destek olmakla kalmayıp, en zor anlarında dahi yanımda durarak beni yeniden güçlendiren sabrı, sevgisi ve anlayışıyla varlığına minnet duyduğum Hüseyin AKAN'a, derin bir gönül borcu ve sonsuz bir teşekkürle...

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Çiğ süt örneklerinde *Escherichia coli* prevalansının ve Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC) virülans genlerinin araştırılması” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Aynur AKAN



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ	i
ONUR SÖZÜ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1 <i>Escherichia coli</i> Nedir?	2
1.2 Patojenik <i>E. coli</i> Türleri.....	3
1.3 UPEC ve Virülans Özellikleri	6
1.4 UPEC'in Patogenezi	7
1.5 UPEC Virülans Faktörleri ve İlişkili Genler	9
1.5.1 Adezinler (yapışma faktörleri).....	10
1.5.2 Toksinler.....	11
1.5.3 Demir alım sistemleri (sideroforlar)	12
1.5.4 Kapsül ve LPS (lipopolisakkarit)	12
1.5.5 Biyofilm Oluşumu	13
1.6 Virülans Genlerinin Klinik Önemi	13
1.7 Gıda Kaynaklı İdrar Yolu Enfeksiyonları (GİYE)	15
1.7.1 GİYE'nin tanımı	15
1.7.2 GİYE'nin epidemiyolojisi.....	15
1.7.3 GİYE'nin bulaş mekanizması	16
1.7.4 Süt ve süt ürünlerinin GİYE'deki rolü	18
1.8 Analiz Yöntemleri	18
1.9 Kültürel Yöntemlerle <i>E. coli</i> 'nin Ön Teşhisi.....	19
1.9.1 McConkey agarda koloni morfolojisi.....	19
1.9.2 Nutrient agarda tek koloni izolasyonu.....	21
1.9.3 Eozin metilen mavi agar koloni morfolojisi.....	21
1.10 Biyokimyasal Yöntemlerle <i>E. coli</i> Tanımlaması.....	22
1.10.1 Gram boyama	22
1.10.2 Üçlü şeker demir testi	23

1.10.3	IMViC testleri.....	24
1.10.4	Katalaz testi	27
1.10.5	Oksidaz testi	27
1.11	Antibiyotik Duyarlılık Testi (Antibiyogram)	27
1.12	Moleküler Yöntemler	29
2.	KAYNAK ÖZETLERİ	31
2.1	Çiğ Sütte <i>E. coli</i> Prevalansı ve Mikrobiyolojik Kalite	31
2.2	Antibiyotik Direnci ve Antibiyogram Çalışmaları	35
2.3	Moleküler Karakterizasyon, Virülans Genleri ve Genotipleme	38
2.4	UPEC Özel Çalışmaları ve Klinik Karşılaştırmalar	41
2.5	Epidemiyoloji, Halk Sağlığı ve Gıda Güvenliği Perspektifi	42
2.6	Probiyotik ve Biyofilm Çalışmaları.....	44
3.	MATERYAL VE METOD	46
3.1	Materyal.....	46
3.1.1	Araç ve gereçler.....	46
3.1.2	Kimyasal malzemeler	47
3.1.3	Besiyerleri.....	47
3.1.4	Antibiyotik diskleri.....	48
3.1.5	DNA ekstraksiyon kiti	49
3.1.6	Molekül ağırlığı DNA belirteci	49
3.2	Yöntem	49
3.2.1	Çiğ süt örneklerinin toplanması.....	49
3.2.2	Çiğ süt örneklerinin analize hazırlanması	50
3.2.3	<i>E. coli</i> izolasyonu ve saf kültür elde edilmesi	51
3.2.4	Bakteri kültürlerinin dondurulması ve saklanması.....	53
3.3	<i>E. coli</i> İzolatlarının Karakterizasyonu	54
3.3.1	Gram boyama	54
3.3.2	Katalaz testi	55
3.3.3	Oksidaz testi	55
3.3.4	Üçlü şeker demir (TSI) testi	56
3.3.5	İndol testi	57
3.3.6	Metil kırmızısı (MR) testi.....	58
3.3.7	Voges-Proskauer (VP) testi	58
3.3.8	Sitrat testi.....	59
3.4	Antibiyogram Testleri	60

3.5	Genomik DNA İzolasyonu	61
3.6	UPEC Virülans Genlerinin Tanımlanması	62
3.6.1	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	62
3.6.2	16S rRNA analizi	66
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	69
4.1	Süt Örneklerinin Toplanması ve Lokasyonlara Göre Dağılımı	69
4.2	Mikrobiyolojik Yöntemlerle Gerçekleştirilen Bakteri İzolasyonuna İlişkin Bulgular	69
4.3	İzolatların IMViC, TSI, Katalaz, Oksidaz Testleri ile Gram Boyama Sonuçları	70
4.4	Antibiyogram Test Sonuçları	75
4.5	UPEC Virülans Genlerinin PZR ile Tespiti	79
4.6	UPEC Virülans Gen Sonuçları	82
4.7	Antibiyogram ve UPEC ile İlişkili Genler Arasındaki Korelasyon Analizi	87
4.8	Antibiyotikler Arasındaki Korelasyonların Analizi	88
4.9	Virülans Genleri Arasındaki Korelasyon Analizi	89
4.10	Antibiyotik Direnci ile Virülans Genleri Korelasyonu Analizi	90
4.11	16S rRNA PZR Analizi Sonuçları	91
4.11.1	16S rRNA sekanslama ve BLAST analizi ile izolatların moleküler identifikasyonu	92
4.11.2	İzolatların NCBI GenBank Erişim Numaraları	96
4.11.3	Sekanslama ve virülans gen analizlerinin birlikte değerlendirilmesiyle UPEC potansiyelinin belirlenmesi	98
5.	SONUÇ	102
	KAYNAKÇA	106
	EKLER	118
	ÖZGEÇMİŞ	127

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1: Başlıca bağırsak patojenik <i>E. coli</i> patotipleri ve özellikleri (Kaper ve diğerleri, 2004).	4
Çizelge 1.2: Bazı antibiyotiklerin türleri ve etki mekanizmaları.	28
Çizelge 3.1: Çalışma kapsamında kullanılan araç ve gereçler, üretici firmaları.	46
Çizelge 3.2: Çalışma kapsamında kullanılan kimyasal malzemeler ve üretici firmaları. ...	47
Çizelge 3.3: Çalışma kapsamında kullanılan besiyerleri ve üretici firmaları.	47
Çizelge 3.4: Çalışma kapsamında kullanılan antibiyotikler, özellikleri ve üretici firmaları	48
Çizelge 3.5: Çalışma kapsamında kullanılan kit ve üretici firması.....	49
Çizelge 4.1: Bakteri izolatlarının IMViC, TSI, katalaz, oksidaz testleri ile gram boyama sonuçları	70
Çizelge 4.2: IMViC testi sonucuna göre <i>E. coli</i> ile uyumlu (pozitif) ve uyumsuz (negatif) süt örneği ve koloni dağılımı.....	75
Çizelge 4.3: İzolatların çeşitli antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık profilleri.....	77
Çizelge 4.4: İzolatlarda virülans ilişkili genlerin niteliksel sonuçları.....	82
Çizelge 4.5: İzolatlarda UPEC virülans genlerinin saptanma oranı yüzdeleri.....	84
Çizelge 4.6: İzolat Kodları ve İlgili Erişim Numaraları.....	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1: <i>E. coli</i> bakterisinin taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüsü	2
Şekil 1.2: Bağırsak dışı patojenik <i>E. coli</i> türleri.	5
Şekil 1.3: İdrar yolu enfeksiyonlarının epidemiyolojisi.....	7
Şekil 1.4: UPEC'e göre idrar yolu enfeksiyonu patogenezi genel bakış	8
Şekil 1.5: UPEC'in üriner sistemdeki enfeksiyon süreci ve başlıca virülans faktörlerinin şematik gösterimi.	10
Şekil 1.6: UPEC'te adezin yapıları ile ilişkili tip 1 ve P fimbriaların şematik sunumu	11
Şekil 1.7: UPEC'nin başlıca virülans faktörlerinin yapısal temsili	13
Şekil 1.8: UPEC enfeksiyonlarında patojen-konak etkileşimi ile antibiyotik, tıbbi bitki ve aşılarda tedavi rollerini gösteren şematik model	17
Şekil 1.9: <i>E. coli</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin MAC agarda oluşturduğu laktoz fermentasyonu pozitif koloni morfolojileri	20
Şekil 1.10: Farklı bakteri türlerinin MAC agar üzerindeki koloni morfolojileri	21
Şekil 1.11: Gram boyama sonrası hücrelerin mikroskopik görüntüsü	23
Şekil 1.12: TSI testinde yaygın enterik patojenlerin sonuçları	24
Şekil 1.13: IMViC testlerinde pozitif ve negatif sonuçların görsel temsili	26
Şekil 3.1: Örneklerin toplandığı lokasyonlar	49
Şekil 3.2: Süt numunelerinin soğuk zincir altında steril kavanozlarda laboratuvara getirilmesi.....	50
Şekil 3.3: Çiğ süt örneklerinin MAC agar besiyerindeki üreme görüntüleri (37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası)	51
Şekil 3.4: Seri sulandırma sonrasında MAC agar besiyerinde üreyen bakteri kolonilerinin görüntüsü.....	51
Şekil 3.5: MAC agarda pembe-kırmızı koloni görünümü.	52
Şekil 3.6: EMM agarda bakterilerin metal röfle görüntüleri.....	52
Şekil 3.7: Nutrient agarda tek koloni gösterimi.	52
Şekil 3.8: İkinci kez doğrulama işlemleri sonrasında EMM agarda bakterilerin metal röfle görüntüleri	53
Şekil 3.9: EMM agarda metalik röfle yapan bakterilerin BHI sıvı besiyerine inokule edilmesi	53
Şekil 3.10: Kriyoprezervasyona hazırlanan bakteri kültürleri	54
Şekil 3.11: Katalaz testinin uygulanması	55
Şekil 3.12: Oksidaz testinin uygulanması	56
Şekil 3.13: TSI testinin uygulanması	57
Şekil 3.14: İndol testinin uygulanması.....	57
Şekil 3.15: MR-VP testlerinin uygulanması	59
Şekil 3.16: Sitrat testinin uygulanması	59
Şekil 3.17: Antibiyogram testinin uygulanması.....	60
Şekil 3.18: DNA izolasyonuna yönelik uygulamalar.....	62
Şekil 3.19: fimA virülans geninin tespitine yönelik PZR ve elektroforez uygulamaları	65
Şekil 3.20: 16S rRNA geni PZR ve elektroforez uygulamaları	67
Şekil 3.21: Çalışmanın iş akış şeması	68
Şekil 4.1: Toplanan çiğ süt numunelerinin lokasyonlara göre yüzdesel dağılımı.....	69

Şekil 4.2: Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> suşlarının farklı antibiyotiklere karşı direnç (kırmızı) ve duyarlılık (yeşil) oranları. Grafik, 18 farklı antibiyotik ajanına karşı test edilen 115 izolatın sonuçlarını göstermektedir.	78
Şekil 4.3: İzolatlara ait MAR indeksi ve MDR durumunun grafiksel sunumu.....	79
Şekil 4.4: UPEC virülans genleri jel görüntüsü. Üst jelde <i>fimA</i> gen bölgesi için seçilen pozitif suşlar (1, 8, 17, 45 ve 99); <i>hlyA</i> için seçilen pozitif suşlar (3, 6 ve 28); <i>kpsMII</i> için seçilen pozitif suşlar (20, 30 ve 44); <i>papC</i> için seçilen pozitif suşlar (8 ve 81) ve alt jelde <i>fyuA</i> için seçilen pozitif suşlar (8, 10 ve 49); <i>iroN</i> için seçilen pozitif suşlar (46, 47 ve 61); <i>agn43</i> için seçilen pozitif suşlar (5, 6 ve 33); <i>iutA</i> için seçilen pozitif suşlar (1, 6 ve 83); <i>cnfl</i> için seçilen pozitif suşlar (99, 102 ve 106), M: Marker (50 bp DNA Ladder RTU (Ready-to-Use), GeneDireX, Taiwan)	80
Şekil 4.5: Antibiyogram ve UPEC ile ilişkili genler arasındaki Pearson korelasyon ilişkisini gösteren grafik. Kutucuklar $p < 0.05$ anlamlılık seviyesini göstermektedir. Kırmızı noktalar negatif korelasyonu ifade ederken mavi noktalar pozitif korelasyonu göstermekte (noktaların boyutları korelasyonun büyüklük veya küçüklüğünü ifade etmektedir).	87
Şekil 4.6: 16S rRNA gen bölgesi PZR amplikonları agaroz jel görüntüsü için seçilen suşlar, M: Marker (50 bp DNA Ladder RTU (Ready-to-Use), GeneDireX, Taiwan).	92
Şekil 4.7: Çalışmada analiz edilen izolatların filogenetik ağaç yapısı.....	95
Şekil 4.8: BLAST analizine göre izolatların tür dağılımı	99
Şekil 4.9: İzolatların UPEC dağılımı	99

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

AIEC	: Yapışık-İnvaziv <i>E. coli</i>
APEC	: Kuş patojenik <i>E. coli</i>
BHI	: Brain Heart Infusion
C	: Citrate
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CNF1	: Cytotoxic Necrotizing Factor 1
DAEC	: Yaygın yapışan <i>E. coli</i>
dNTP	: Deoksiribonükleotid trifosfatlar
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EAEC	: Enteroagregatif <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EMM	: Eozin Metilen Mavi
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
ExPEC	: Bağırsak dışı patojenik <i>E. coli</i>
EtBr	: Etidyum bromid
GiYE	: Gıda kaynaklı idrar yolu enfeksiyonları
HÜS	: Hemolitik Üremik Sendrom
İBT	: Hücre içi bakteriyel topluluklar
İYE	: İdrar yolu enfeksiyonları
I	: Indol
KOH	: Potasyum hidroksit
NCBI	: National Center for Biotechnology Information (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)
NMEC	: Neonatal menenjit <i>E. coli</i>
MAC	: MacConkey
MAR	: Multiple Antibiotic Resistance
MDR	: Multidrug Resistance
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MPEC	: Mastitis ile ilişkili <i>E. coli</i>
MR	: Methyl Red
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SEPEC	: Sepsis ile ilişkili <i>E. coli</i>
SF	: Serum fizyolojik
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TSI	: Üçlü Şeker Demir
UPEC	: Üropatojenik <i>E. coli</i>
UV	: Ultraviyole
vat	: Vacuolating Autotransporter Toxin
VP	: Voges-Proskauer

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇİĞ SÜT ÖRNEKLERİNDE *ESCHERİCHİA COLİ* PREVALANSININ VE ÜROPATOJENİK *ESCHERİCHİA COLİ* (UPEC) VİRÜLANS GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

AYNUR AKAN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

127+XI sayfa
2025

Danışman: Doç. Dr. Seval CİNG YILDIRIM

Bu çalışma, Malatya bölgesinden temin edilen 122 çiğ süt örneğinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının moleküler düzeyde tanımlanması, antibiyotik direnç profilleri ve üropatojenik *E. coli* (UPEC) potansiyelinin belirlenmesine yönelik çok yönlü bir analiz sunmaktadır. İlk aşamada 206 koloni izole edilmiş, bunlardan 115'i biyokimyasal testlerle *E. coli* olarak tanımlanmıştır. Tür düzeyinde doğrulama için yapılan 16S rRNA gen bölgesi PZR amplifikasyonu ve sekans analizleri, bu izolatların büyük çoğunluğunun *E. coli* ile yüksek oranda benzerlik taşıdığını ortaya koymuştur.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde tüm izolatlar sefalotine %100 direnç göstermiştir. Fosfomisine (% 25.2) ve sülfametoksazole (% 8.7) direnç oranları da dikkat çekicidir. MAR (Multiple Antibiotic Resistance) indeksi 0.178 olarak hesaplanmış, bu durum orta düzeyde antibiyotik baskısı altında gelişmiş bir direnç profilini göstermektedir. Ayrıca izolatların % 65.2'si birden fazla antibiyotik grubuna karşı dirençli (MDR) olarak tanımlanmıştır.

UPEC karakterizasyonu amacıyla seçilen 69 *E. coli* izolatında 10 virülans geni PZR ile taranmış; en sık tespit edilen genler *fimA* (% 98.5) ve *agn43* (% 95.6) olmuştur. Literatürde yaygın kabul gören kriterlere göre, en az üç virülans genine sahip olan 34 izolat (% 66.60) potansiyel UPEC suşu olarak sınıflandırılmıştır. Bu durum, 16S rRNA ile doğrulanan *E. coli* suşlarının önemli bir kısmının, özellikle idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabilen zoonotik ve yüksek virülanslı patotipler taşıdığını göstermektedir. Sonuç olarak, çiğ süt ürünleri yalnızca gıda kaynaklı mikrobiyolojik kontaminasyon riski taşımamaktadır. Aynı zamanda antibiyotik dirençli ve UPEC özellikleri taşıyan *E. coli* suşları için bir rezervuar olabilmektedir. Bu bulgular, çiğ süt tüketiminin halk sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerine dair güçlü bir uyarı niteliği taşımaktadır ve gıda güvenliği açısından daha sıkı denetim ve farkındalık ihtiyacını ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Çiğ süt, Üropatojenik *E. coli* (UPEC), virülans genler, antibiyotik direnci, halk sağlığı

ABSTRACT

Master's Thesis

INVESTIGATION OF THE PREVALENCE OF *ESCHERICHIA COLI* AND UROPATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI* (UPEC) VIRULENCE GENES IN RAW MILK SAMPLES

AYNUR AKAN

Inonu University
Art and Science Faculty
Department of Biology
127+XI Pages

2025

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Seval CING YILDIRIM

This study provides a comprehensive analysis of *Escherichia coli* strains isolated from 122 raw milk samples collected in the Malatya region, focusing on molecular identification, antibiotic resistance profiles, and the potential of Uropathogenic *E. coli* (UPEC). Initially, 206 colonies were isolated, with 115 biochemically confirmed as *E. coli*. Species-level confirmation using PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene showed high similarity to *E. coli*.

Antibiotic susceptibility tests revealed 100% resistance to cephalothin. Notable resistance rates were observed for fosfomicin (25.2%) and sulfametoksazol (8.7%). The Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index was calculated as 0.178, indicating moderate antibiotic pressure contributing to resistance development. Additionally, 65.2% of isolates were identified as multidrug-resistant (MDR), exhibiting resistance to multiple antibiotic classes.

For UPEC characterization, 69 isolates were screened for 10 virulence genes via PCR; *fimA* (98.5%) and *agn43* (95.6%) were the most prevalent. Based on widely accepted criteria, 34 isolates (66.60%) carrying at least three virulence genes were classified as potential UPEC strains. This suggests that a significant portion of the *E. coli* isolates possess zoonotic and highly virulent pathotypes capable of causing urinary tract infections.

In conclusion, raw milk products not only present a risk of microbiological contamination but also serve as reservoirs for antibiotic-resistant and UPEC-associated *E. coli* strains. These findings highlight the potential public health risks of raw milk consumption and underscore the need for stricter regulations and increased food safety awareness.

Keywords: Raw milk, Uropathogenic *E. coli*, virulence genes, antibiotic resistance, public health

1. GİRİŞ

Süt, insan beslenmesinde temel bir yeri olan, yüksek biyolojik değere sahip bir hayvansal gıdadır. İçeriğinde bulunan protein, kalsiyum, fosfor, magnezyum, potasyum, çinko, B12 vitamini ve riboflavin gibi temel besin öğeleri sayesinde özellikle çocukluk ve ergenlik döneminde büyüme ve gelişme, yetişkinlikte ise kemik sağlığının korunması açısından kritik öneme sahiptir. Yapılan araştırmalar, süt içmeyen çocukların daha düşük kalsiyum alımına sahip olduğunu ve buna bağlı olarak kemik sağlıklarının olumsuz etkilendiğini göstermektedir (Black ve diğerleri, 2002).

Süt proteinleri, doku onarımı ve bağışıklık sisteminin desteklenmesinde aktif rol oynamaktadır. Ayrıca sütün düzenli tüketimi, kemik mineral yoğunluğunu artırarak osteoporoz riskini azaltabilir ve kalsiyum emilimini destekleyerek sağlıklı diş gelişimine katkı sağlayabilir (Heaney, 2000). Bazı çalışmalarda süt tüketiminin hipertansiyon riskini azaltabileceği ve vücut ağırlığı kontrolünü destekleyebileceği de belirtilmiştir (Willett ve Ludwig, 2020).

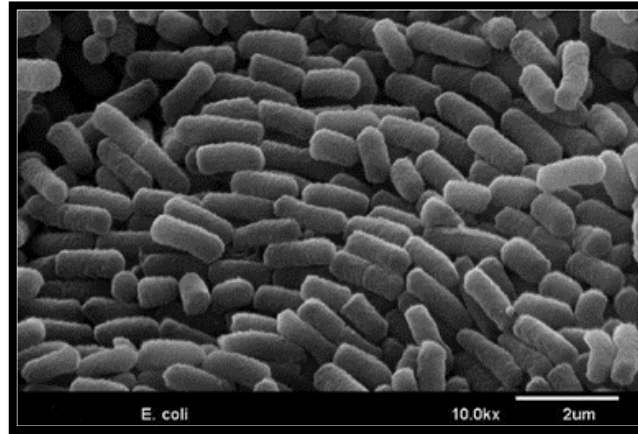
Süt, insan beslenmesinde temel bir yere sahip olmasına rağmen, üretimden tüketime kadar olan süreçte hijyenik koşullara dikkat edilmediğinde halk sağlığı açısından ciddi riskler oluşturabilmektedir. Özellikle çiğ süt, sağım sonrası çevresel etkenlerle kolayca kontamine olabilir ve kısa sürede bozulmaya uğrayarak insanlarda hastalık yapıcı patojen mikroorganizmaların yayılmasına neden olabilir. Bu nedenle çiğ süt, gerekli işleme ve kontrollerden geçirilmeden doğrudan tüketime uygun bir gıda olarak değerlendirilmemektedir (Kalkan ve Halkman, 2006).

Çiğ sütte bulunan mikroorganizmalar, ineğin memesinden, sağım ekipmanlarından, taşıma ve depolama koşullarından ya da çevreden kaynaklı olarak süte bulaşabilmektedir. Bu mikroorganizmalar zararlı olabilecekleri gibi, bazıları da faydalı özellikler taşıyabilir. Örneğin, laktik asit bakterileri gibi bazı probiyotik türler, fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılabilir (Olajide ve LaPointe, 2022). Ayrıca, bu bakterilerin bağışıklık sistemini destekleyici ve gastrointestinal sağlık üzerinde olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir (Quigley ve diğerleri, 2013). Ancak sütün mikroorganizmalar için uygun bir gelişme ortamı sunması nedeniyle, üretim ve işleme süreçlerinde hijyen ve uygun sıcaklık

koşullarının sağlanması, ürün güvenliği açısından kritik öneme sahiptir(Olajide ve LaPointe, 2022). Aksi durum, özellikle halk sağlığı açısından önemli riskler taşıyan patojen mikroorganizmaların süte bulaşmasına zemin hazırlar. Bu patojenler arasında yer alan *Escherichia coli* (*E. coli*), çiğ sütte en sık karşılaşılan ve gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olan bakterilerden biridir (Jay, Loessner ve Golden, 2005).

1.1 *Escherichia coli* Nedir?

E. coli, ilk olarak 19. yüzyılın sonlarında çocuk doktoru Theodor Escherich tarafından sağlıklı bebeklerin bağırsak florasında tanımlanmış ve daha sonra onun onuruna bugünkü adını almıştır (Kaper, 2005). Gram negatif, fakültatif anaerob ve kokobasil şeklindeki bu bakteri, hem insan hem de hayvanların bağırsaklarında doğal olarak bulunan kommensal bir türdür. Bu morfolojik özellikler, mikroskopik görüntüler aracılığıyla detaylı şekilde gözlemlenebilmektedir. (Şekil 1.1). *E. coli*, genellikle sıcakkanlı hayvanların, özellikle de insanların alt bağırsak sisteminde doğal olarak bulunan bir mikroorganizmadır ve dışkı ve atık su deşarjları aracılığıyla çevreye yayılabilmektedir. Bu nedenle sulak ekosistemlerde *E. coli* varlığı, uzun süredir fekal kirliliğin göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalar, bazı *E. coli* suşlarının bağırsak dışı ortamlarda da uzun süre canlı kalabildiğini ve bu ortamlarda çoğalabildiğini ortaya koymuştur (Jang ve diğerleri, 2017).



Şekil 1.1: *E. coli* bakterisinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü (Krishnakumar, 2016).

Zararsız suşları bağırsakta K vitamini üretimi gibi faydalı görevler üstlenirken, bazı suşları ciddi gastrointestinal enfeksiyonlara neden olabilecek patojenik özellikler gösterebilir (Tenaillon ve diğerleri, 2010). Bu bakteri, sağlıklı mikrobiyota yapısında yer alan önemli bir tür olmasının yanı sıra, moleküler biyolojinin gelişiminde model organizma olarak da büyük rol oynamıştır. Günümüzde probiyotik olarak potansiyel kullanımı araştırılmakta ve genetik

Çalışmaların temel araılarından biri olarak değerlendirilmektedir. Ancak aynı zamanda halk sağlığı açısından önem arz eden salgınlarla ilişkilendirilmesi nedeniyle, patojenik suşları özellikle tıbbi mikrobiyoloji alanında dikkatle incelenmektedir (Kaper, 2005).

Bu bağlamda *E. coli*, çevresel yayılımı ve konakısına göre farklılaşan genetik yapısıyla mikrobiyal ekolojide önemli bir model oluşturmaktadır. Su, toprak, gıda ve hayvan kaynaklı örneklerde tespit edilebilen bu bakteri, özellikle gıda güvenliği açısından dikkatle izlenmesi gereken mikroorganizmalar arasında yer alır. Ayrıca, gelişen genomik teknikler sayesinde farklı suşların patojenite potansiyeli, antibiyotik direnç profilleri ve virlans faktörleri detaylı bir şekilde karakterize edilebilmektedir. Bu çok yönlü yapısı, *E. coli*'nin hem yararlı hem de zararlı yönleriyle çok disiplinli araştırmaların odak noktası olmasına neden olmuştur(Tenaillon ve diğerleri, 2010).

E. coli, süt ineklerinde meme dokusu enfeksiyonlarına (mastitis) neden olabilen çevresel kökenli bir patojen olup, aynı zamanda insanlar için gıda yoluyla bulaşabilen zoonotik bir risk faktörü olarak da değerlendirilmektedir (Li ve diğerleri, 2022). Bu bağlamda, süt gibi hayvansal kaynaklı bir gıdada *E. coli*'nin varlığı yalnızca mikrobiyolojik bir kontaminasyon göstergesi olarak değil; aynı zamanda hijyenik üretim ve işleme süreçlerinin yetersizliğine işaret eden önemli bir halk sağlığı problemi olarak ele alınmalıdır (Oliver, Jayarao ve Almeida, 2005). Normal koşullarda steril olması gereken süte *E. coli* bulaşması, çevresel hijyen eksiklikleri, hayvan sağlığına ilişkin sorunlar veya işleme sürecindeki aksaklıklarla doğrudan ilişkilidir (Jay ve diğerleri, 2005). Özellikle patojenik *E. coli* türlerinin tespit edilmesi, ciddi gastrointestinal enfeksiyonlara, hemolitik üremik sendrom (HUS) gibi komplikasyonlara ve hatta ölümcül salgınlara yol açabilecek potansiyel bir risk taşır. Bu nedenle çiğ sütte *E. coli* varlığı, tüketicisi güvenliği açısından dikkate alınması gereken kritik bir göstergedir. Üstelik bu durum yalnızca bireysel değil, toplumsal düzeyde de sağlık tehditleri yaratabileceğinden, hem üretici hem de denetleyici kurumlar açısından önem arz etmektedir (Jay ve diğerleri, 2005; Kaper, 2005; Tenaillon ve diğerleri, 2010).

1.2 Patojenik *E. coli* Türleri

Patojenik *E. coli* suşları, farklı virlans genlerinin varlığına bağlı olarak değişen patojenite özellikleri gösteren zoonotik gıda kaynaklı patojenlerdir (Li ve diğerleri, 2022).

İnsanlardan izole edilen ve diyarejenik ya da ekstraintestinal hastalıklara neden olan bu suşlar, genellikle patotiplere ayrılarak sınıflandırılmaktadır (Kaper ve diğerleri, 2004).

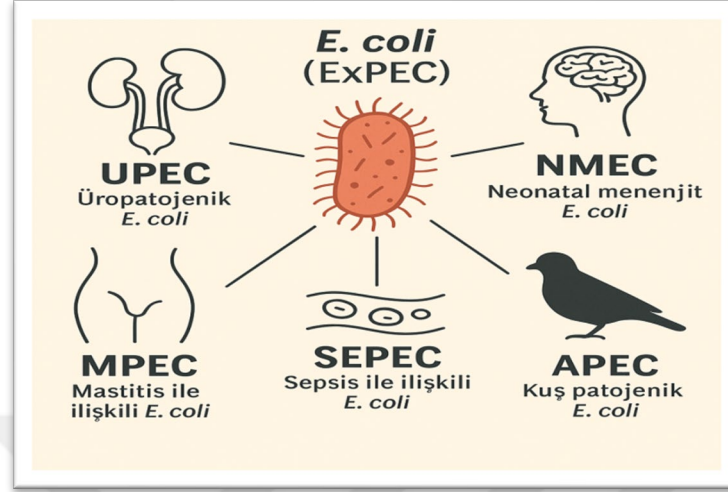
Öncelikle, enterik patojenik *E. coli* suşları, yani bağırsak enfeksiyonlarına neden olan türler, yedi ana patotip altında toplanmaktadır: Enteropatogenik *E. coli* (EPEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), Yaygın yapışan *E. coli* (DAEC) ve Yapışık-İnvaziv *E. coli* (AIEC) (Çizelge 1.1). Bu suşlar genellikle ishal, abdominal ağrı ve bağırsak bozuklukları gibi gastrointestinal semptomlarla ilişkilendirilir. Özellikle EHEC suşları, yalnızca gastrointestinal enfeksiyonlara neden olmakla kalmayıp, Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS) gibi ciddi sistemik komplikasyonlara da yol açabilmektedir (Pakbin ve diğerleri, 2021).

Çizelge 1.1: Başlıca bağırsak patojenik *E. coli* patotipleri ve özellikleri (Kaper ve diğerleri, 2004).

Patotip	Kısaltma	Temel Virülans Faktörleri	Hedef Grup / Klinik Belirti	Bulaş Yolu
Enteropatogenik <i>E. coli</i>	EPEC	Eae (intimin), BFP (bundle-forming pili)	Bebeklerde sulu ishal	Fekal-oral
Enterohemorajik <i>E. coli</i>	EHEC	Shiga toksini (Stx1, Stx2), intimin	Kanlı ishal, HUS riski	Kontamine gıda/su
Enterotoksijenik <i>E. coli</i>	ETEC	LT (ısıya duyarlı toksin), ST (ısıya dayanıklı toksin)	Seyahat ishali	Kontamine su/gıda
Enteroinvaziv <i>E. coli</i>	EIEC	İnvazyon genleri (<i>ipaH</i> vb.)	Dizanteri benzeri ishal	Fekal-oral
Enteroagregatif <i>E. coli</i>	EAEC	AggR, AAF (adezin faktörleri)	Uzun süreli ishal	Kontamine gıda
Difüz yapışan <i>E. coli</i>	DAEC	F1845 adezinleri	Hafif sulu ishal (genellikle çocuklarda)	Fekal-oral
Yapışkan-invaziv <i>E. coli</i>	AIEC	İnvazyon ve makrofaj içinde çoğalma	Crohn hastalığı ile ilişkili	Bilinmiyor (araştırma aşamasında)

Bağırsak dışı patojenik *E. coli* (ExPEC) suşları ise normal bağırsak florasının bir parçası olan ancak uygun koşullarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilen fakültatif patojenlerdir. Bu grup, Üropatojenik *E. coli* (UPEC), Neonatal menenjit *E. coli* (NMEC), Sepsis ile ilişkili *E. coli* (SEPEC), Mastitis ile ilişkili *E. coli* (MPEC) ve Kuş patojenik *E. coli* (APEC) gibi

çeşitli alt grupları içermektedir (Sora ve diğerleri, 2021). (Şekil 1.2). ExPEC suşları, genellikle idrar yolu enfeksiyonları, menenjit ve sepsis gibi sistemik hastalıklarla ilişkilidir (Sarowska ve diğerleri, 2019).



Şekil 1.2: Bağırsak dışı patojenik *E. coli* türleri.

ExPEC, son yıllarda halk sağlığını tehdit eden önemli bir bakteri grubu olarak öne çıkmaktadır. Geniş bir virülans faktörü repertuarına ve belirgin genomik esnekliğe sahip bu suşlar, yalnızca basit idrar yolu enfeksiyonlarına değil, aynı zamanda sepsis, menenjit ve diğer sistemik enfeksiyonlara da neden olabilmektedir. ExPEC, başta yaşlı bireyler ve yenidoğanlar olmak üzere tüm yaş gruplarında çeşitli klinik sendromlarla ilişkilendirilmekte; merkezi sinir sistemi, dolaşım ve solunum sistemi gibi farklı anatomik bölgeleri etkileyebilmektedir. Özellikle genç ve sağlıklı kadınlarda görülen idrar yolu enfeksiyonlarının çoğunluğu ExPEC kaynaklıdır. Ayrıca bu patotipler, safra yolu enfeksiyonlarından pelvik inflamatuvar hastalıklara kadar geniş bir yelpazede enfeksiyon etkeni olarak rol oynamaktadır. ExPEC suşları, 2000’li yıllardan itibaren sefalosporinler ve florokinolonlar başta olmak üzere çeşitli antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç ile dikkat çekmiş; bu durum, küresel ölçekte artan morbidite ve mortalite oranları ile birlikte değerlendirildiğinde, söz konusu bakterilerin önemini daha da artırmıştır. ExPEC’in enfeksiyon oluşturabilmesi yalnızca bakteriye ait özelliklerle sınırlı kalmamakta, aynı zamanda konağa özgü bağışıklık ve fizyolojik durum gibi faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir. Tüm bu nedenlerle, ExPEC kaynaklı enfeksiyonlar yalnızca klinik açıdan değil, aynı zamanda halk sağlığı ve antibiyotik direnci açısından da kritik öneme sahiptir (Dale ve Woodford, 2015; Kong ve diğerleri, 2017; Pitout, 2012; Poolman ve Wacker, 2015; Sarowska ve diğerleri, 2019).

ExPEC suşlarının genel özellikleri ve yol açtıkları enfeksiyon çeşitliliği göz önüne alındığında, bu grubun içinde yer alan belirli patotiplerin klinik açıdan daha da dikkat çektiği görülmektedir (Kaper ve diğerleri, 2004; Russo ve Johnson, 2000). Bu suşlar arasında özellikle UPEC, hem toplum kökenli hem de hastane ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) başlıca etkeni olması nedeniyle ayrı bir öneme sahiptir (Flores-Mireles ve diğerleri, 2015). ExPEC grubuna dahil olmakla birlikte, UPEC suşları kendilerine özgü virülans faktörleri sayesinde üriner sistemde kolonizasyon, invazyon ve enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahiptir (Subashchandrabose ve Mobley, 2015). Bu bağlamda, ExPEC'in geniş yelpazedeki patojenik potansiyeli içinde UPEC, insan sağlığını tehdit eden en yaygın ve klinik olarak en sık karşılaşılan alt grubu oluşturmaktadır. Dolayısıyla ExPEC kapsamı içinde UPEC'in ayrıntılı biçimde ele alınması, hem patogenezin daha iyi anlaşılmasına hem de halk sağlığı açısından önceliklendirilmesine katkı sağlayacaktır.

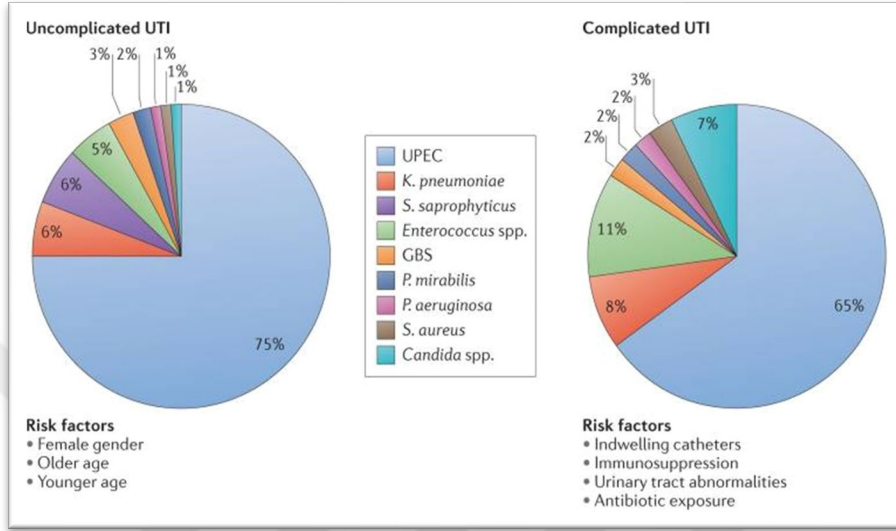
1.3 UPEC ve Virülans Özellikleri

UPEC, insanlarda en sık görülen başlıca İYE etkenidir. Normal bağırsak florasının bir parçası olan *E. coli*'nin özel bir patotipi olan UPEC, bağırsak dışı ortamlarda, özellikle üriner sistemde enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahiptir (Whelan ve diğerleri, 2023). Diğer bağırsak patojenlerinden farklı olarak, UPEC suşları üriner sistem dokularına tutunma, çoğalma ve bu ortamlarda bağışıklık sisteminden kaçabilme gibi özel virülans özellikleriyle ön plana çıkar. Bu yönüyle, UPEC hem toplum kökenli hem de hastane kaynaklı İYE'lerin önemli bir nedenidir (Klein ve Hultgren, 2020).

UPEC, hem komplikasyonsuz hem de komplike idrar yolu enfeksiyonlarında baskın enfeksiyöz ajandır (Medina ve Castillo-Pino, 2019). UPEC'in yaygınlığı, hem toplum kökenli hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında yüksek olmasının yanı sıra, özellikle kadınlar ve yaşlı bireyler gibi risk grubundaki kişilerde ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Whelan ve diğerleri, 2023). Ayrıca tedavi edilmediği takdirde böbrek hasarına, kan dolaşımına yayılmaya ve sepsise neden olan bir patojendir (Medina ve Castillo-Pino, 2019). Dolayısıyla, UPEC'in patogenezinin anlaşılması, bu enfeksiyonların daha etkin bir şekilde önlenmesi ve tedavi edilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Klein ve Hultgren, 2020).

Demografik veriler de UPEC'in neden olduğu İYE'lerin halk sağlığı üzerindeki etkisini açıkça göstermektedir. Kadınların yaklaşık %50'si yaşamları boyunca en az bir kez İYE geçirirken, bu enfeksiyonların tekrarlama oranı oldukça yüksektir. Ayrıca, İYE'ler, yaşlı

yetişkinlerde bildirilen en yaygın enfeksiyonlardan biri olup, 65 yaş üstü hastanede yatan bireylerde solunum yolu enfeksiyonlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır (Whelan ve diğerleri, 2023). UPEC, komplikasyonsuz İYE'lerin yaklaşık %75'inden ve komplike İYE'lerin %65'inden sorumludur. (Şekil 1.3). Sağlık hizmeti ortamlarında ise, İYE tanısı konan hastaların oranı %9,4'e kadar çıkmaktadır (Yang ve diğerleri, 2022).



Şekil 1.3: İdrar yolu enfeksiyonlarının epidemiyolojisi (Flores-Mireles ve diğerleri, 2015).

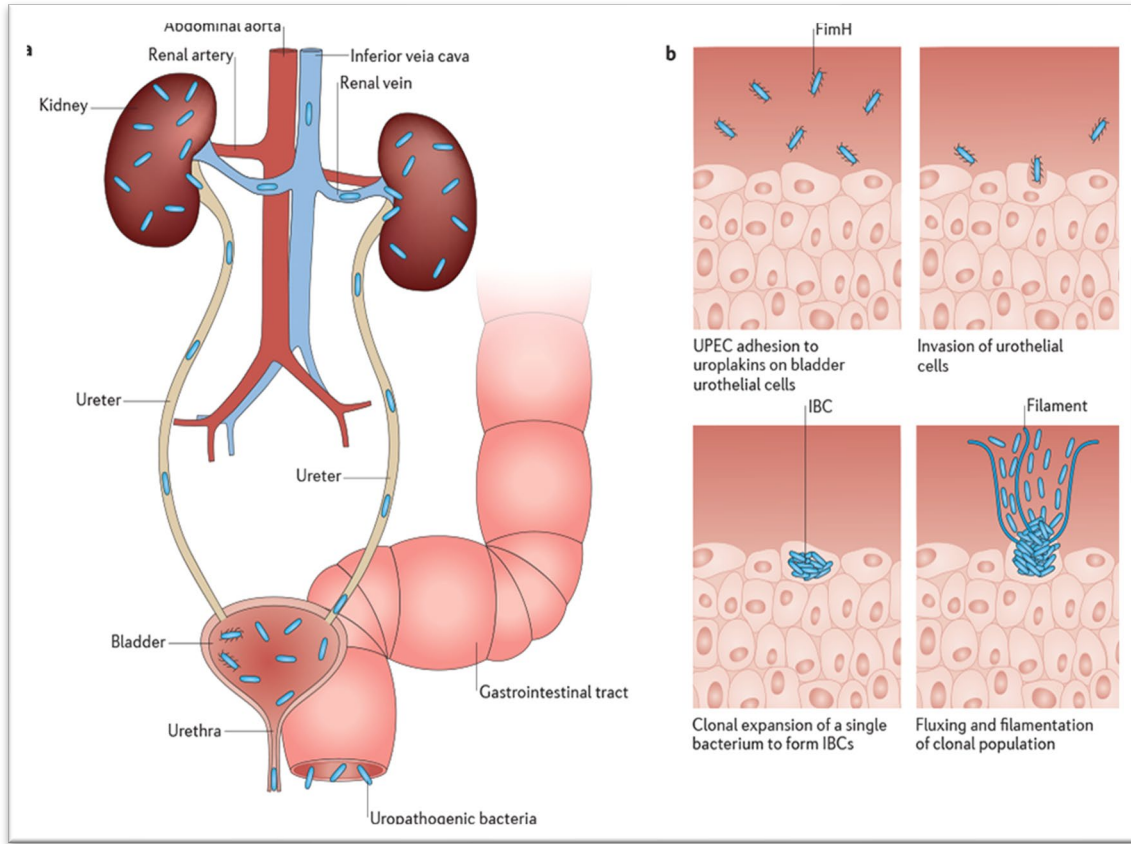
1.4 UPEC'in Patogenezi

UPEC, idrar yolu enfeksiyonlarında çok basamaklı bir patogenezi süreciyle enfeksiyon oluşturma kapasitesine sahiptir. Bu süreç genellikle aşağıdan yukarıya bir enfeksiyon modeliyle ilerler ve bakterinin üretradan mesaneye, oradan da üst üriner sisteme yayılımıyla sonuçlanabilir.

Enfeksiyon, bakterinin üretral giriş yoluyla mesaneye ulaşması ile başlar. Kadınlarda üretranın kısa olması, bu bakterinin mesaneye ulaşmasını kolaylaştıran önemli bir anatomik faktördür (Wiles ve diğerleri, 2008). Üriner sistem epitel hücrelerine özgü adezin yapıları aracılığıyla tutunarak kolonizasyon başlatır. Patogenezi sürecinde kritik rol oynayan tip 1 fimbrialar ve P fimbrialar gibi yüzey adezinleri, bakterinin epitel yüzeylere sıkıca bağlanmasını sağlar ve enfeksiyonun başlaması ile ilerlemesinde temel bir rol oynar (Klein ve Hultgren, 2020). Tip 1 fimbrialar, özellikle mesane epitel hücrelerinde bulunan mannoz içeren reseptörlere yüksek afiniteyle bağlanarak bakterinin mesanede kalıcılığını artırırken; P fimbrialar, özellikle böbrek epitel hücrelerine tutunmada etkilidir ve piyelonefrit gibi üst üriner sistem enfeksiyonlarının gelişiminde önemli bir rol oynar (Whelan ve diğerleri, 2023).

Bu adezin yapılar, bakterinin üriner sistemde kalıcılığını destekleyerek enfeksiyonun yayılmasına zemin hazırlar.

Adezyonun ardından, UPEC suşları epitel hücrelerinin içine girerek invazyon gerçekleştirir. Hücre içine giren bakteriler burada çoğalır ve hücre içi bakteriyel topluluklar (İBT) oluşturur (M. A. Mulvey ve diğerleri, 2001). Bu yapılar, bakterilere fagositik hücrelerden ve bazı antibiyotiklerden korunma avantajı sağlar. İBT oluşumu aynı zamanda enfeksiyonun akut fazının ardından görülen tekrarlayan enfeksiyonların önemli bir nedenidir (Şekil 1.4) (Mysorekar ve Hultgren, 2006)



Şekil 1.4: UPEC'e göre idrar yolu enfeksiyonu patogenezinin genel bakış (Klein ve Hultgren, 2020).

- a) UPEC, gastrointestinal sistem, perineum veya vajinadan üretraya geçerek mesaneye ulaşır. Bu durum, sistit gibi alt üriner sistem enfeksiyonlarına yol açabilir. Bakteriler üreter yoluyla böbreğe ilerleyerek piyelonefrit tablosuna ve ileri aşamada bakteriyemiye neden olabilir.
- b) Mesanede UPEC, FimH aracılığıyla epitel hücrelerine tutunur ve invaze olur. Hücre içinde çoğalarak İBT oluşturur. Bu yapılar, bakteriyi konağın bağışıklık sisteminden korur ve yeni enfeksiyon döngüsünü başlatmak üzere bakteriler tekrar mesane lümenine geçer.

Kolonizasyonu takiben bazı UPEC suşları, epitel hücrelerine invaze olur ve burada hücre içi bakteriyel koloni yapıları oluşturur. Bu yapılar, bakterinin hem konak bağışıklık sisteminden kaçmasına hem de nükseden enfeksiyonların gelişmesine katkıda bulunur (Whelan ve

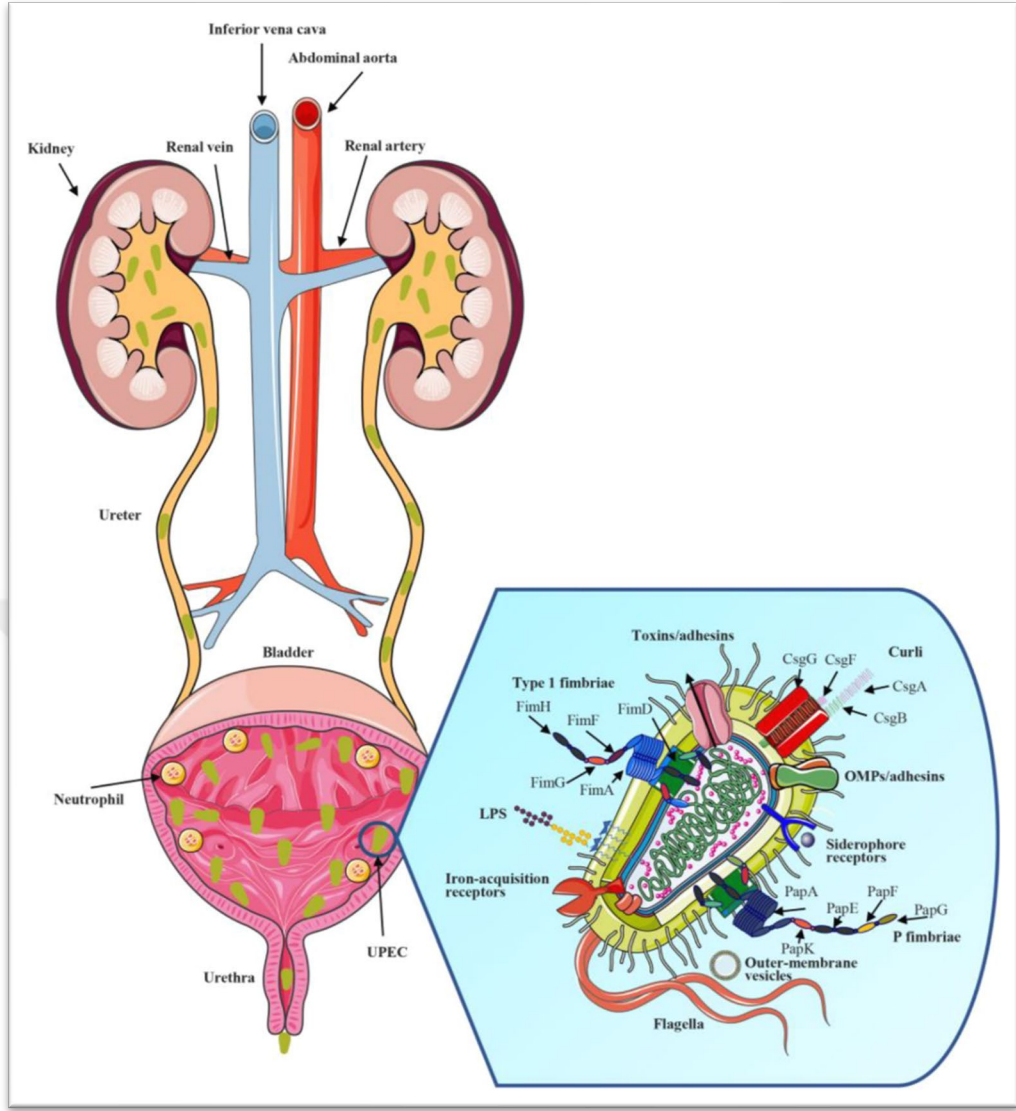
diğerleri, 2023). Ek olarak, bazı UPEC izolatları biyofilm oluşturarak hem konak savunma mekanizmalarına hem de antimikrobiyal ajanlara karşı direnç kazanır. Biyofilmler, polisakkarit yapıdaki bir matriks içinde bakterilerin organize bir şekilde yerleşmesini sağlayan yapılar olup, antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gelişimini kolaylaştırır (Medina ve Castillo-Pino, 2019). Özellikle kateter ilişkili İYE'lerde biyofilm oluşumu, tedavi sürecini zorlaştıran önemli bir etkidir.

İnvazyon ve biyofilm oluşumuna ek olarak, UPEC suşları çeşitli bağışıklık kaçış mekanizmalarıyla da enfeksiyonun kronikleşmesine katkıda bulunur. Bu mekanizmalar arasında kompleman sisteminin inhibisyonu, fagositik hücrelerin aktivitesinin engellenmesi ve proinflatuar sitokin yanıtlarının baskılanması yer alır (Klein ve Hultgren, 2020). Bu sayede bakteriler, hem konak savunmalarından kaçır hem de enfeksiyonun ilerlemesi için elverişli bir ortam oluşturur.

Tüm bu süreçler, UPEC'in patogeneğinde görev alan çok sayıda virölans faktörünün eşgüdümlü etkinliğiyle gerçekleşmektedir. Bu nedenle, enfeksiyon sürecinin daha iyi anlaşılabilmesi için söz konusu virölans faktörlerinin ayrıntılı olarak incelenmesi gerekmektedir.

1.5 UPEC Virölans Faktörleri ve İlişkili Genler

UPEC suşlarının konakta enfeksiyon oluşturma ve bu enfeksiyonu sürdürme başarısı, yalnızca patojenin anatomik bariyerleri aşabilmesiyle değil, aynı zamanda çok çeşitli virölans faktörleri ve bu faktörleri kodlayan genlerin eşgüdümlü olarak devreye girmesiyle ilişkilidir. Bu virölans faktörleri; bakterinin konak hücrelere tutunması, invazyonu gerçekleştirmesi, konak savunma sistemlerinden kaçınması ve doku hasarına kadar birçok basamakta rol oynamaktadır (Şekil 1.5). Başlıca UPEC virölans faktörleri şu şekilde sınıflandırılabilir:



Şekil 1.5: UPEC'in üreter sistemdeki enfeksiyon süreci ve başlıca virülans faktörlerinin şematik gösterimi. (Zhou ve diğerleri, 2023)

1.5.1 Adezinler (yapışma faktörleri)

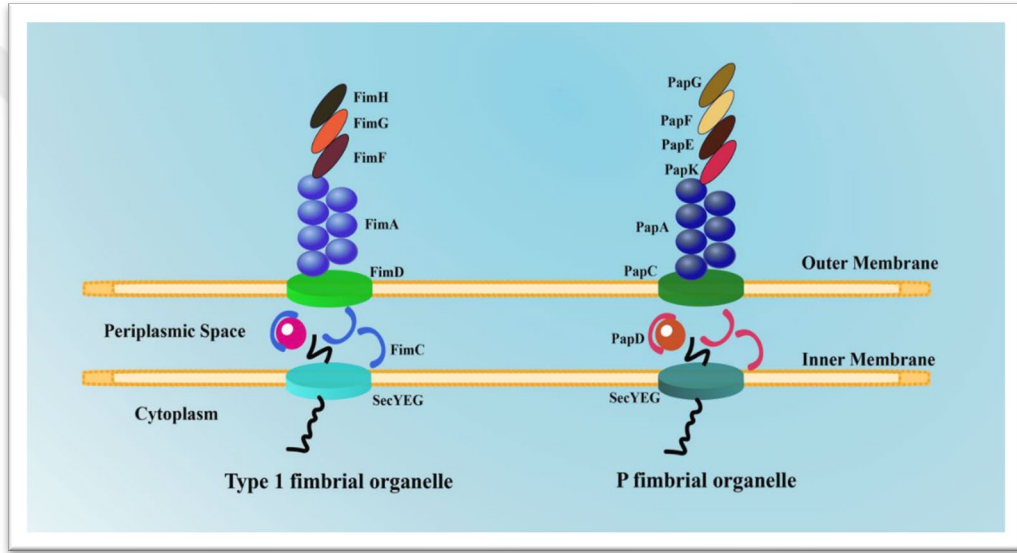
Konak epitel hücrelerine yapışma (adezyon), enfeksiyonun ilk ve en kritik basamağını oluşturur. UPEC suşları bu basamakta çeşitli adezin yapıları kullanır.

- **Tip 1 fimbrialar (fimA):** Tip 1 fimbriaların majör yapısal alt birimi olan FimA proteini, fimbriaların filamentöz gövde yapısını oluşturur. Bu protein, fimbrial yapının iskeletini meydana getirerek bakterinin yüzey yapılarının oluşumunda temel rol oynar (Whelan ve diğerleri, 2023b; Wright ve diğerleri, 2007).
- **Tip 1 fimbrialar (fimH):** FimH geni, tip 1 fimbriaların ucunda yer alan ve mesane epitel hücrelerinde bulunan mannoz içerikli reseptörlere yüksek afiniteyle bağlanan adezin

proteinini kodlar. Bu bağlanma, bakterinin mesaneye tutunmasını ve İBT oluşumunun başlatmasını sağlar (Matthew A. Mulvey ve diğerleri, 2000).

- **P fimbrialar (pap gen kümesi):** Böbrek tübüler hücrelerine tutunmada etkilidir ve genellikle piyelonefrit vakalarında saptanır. Bu adezinler, bakterilerin konakta kalıcılığını sağlar ve enfeksiyonun yayılımını kolaylaştırır. *papA*, *papC*, *papEF* gibi genler bu fimbriaların yapısal ve fonksiyonel bileşenlerini kodlar (Whelan ve diğerleri, 2023)

UPEC suşlarında enfeksiyonun başlangıcında rol oynayan tip 1 ve P fimbrialarının yapısal özelliklerini ve adezyon mekanizmalarını gösteren bir görsele yer verilmiştir (Şekil 1.6).



Şekil 1.6: UPEC'te adezin yapıları ile ilişkili tip 1 ve P fimbriaların şematik sunumu (Zhou ve diğerleri, 2023).

1.5.2 Toksinler

UPEC suşları, konak hücrelerine zarar verebilecek toksinler salgılayarak enfeksiyonun ilerlemesine katkı sağlar.

- **Hemolizin A (HlyA):** *hlyA* geni tarafından kodlanan bu toksin, eritrosit membranlarını parçalayarak hemolize neden olur. Ayrıca lökositleri etkileyerek bağışıklık yanıtını baskılar (Bien ve diğerleri, 2012).
- **Sitotoksik Nekrotizan Faktör 1 (CNF1):** *cnf1* geni ile kodlanan bu toksin, konak hücre iskeletini yeniden yapılandırarak bakterinin invazyonunu kolaylaştırır (Davis ve diğerleri, 2006).

- **Vacuolating Autotransporter Toxin (vat):** *vat* geni, konak hücrelerde vakuol (içi sıvı dolu kesecik) oluşumuna neden olan bir toksin üretir. Bu toksin, konak hücrelerin yapısını bozar, hücre ölümüne (apoptoz) yol açabilir ve enfeksiyonun yayılımını kolaylaştırır (Whelan ve diğerleri, 2023).

1.5.3 Demir alım sistemleri (sideroforlar)

Demir, bakteri metabolizması için hayati önemdedir. Konakta serbest demirin sınırlı olması nedeniyle UPEC suşları, çeşitli siderofor sistemleri kullanır. Bu sistemler, konaktan demir elde edilmesinde kilit rol oynayarak UPEC'in konak içerisinde hayatta kalmasını ve enfeksiyon sürecini devam ettirmesini sağlar.

- **Aerobaktin (iutA):** Demir bağlama yeteneği yüksek olan bir siderofor olup, *iutA* geni tarafından kodlanır (Garénaux ve diğerleri, 2011).
- **Salmochelin (iroN):** Laktoferrin ve transferrin gibi konak proteinlerinden demir alımını sağlar. *iroN* geni, salmochelin reseptörünü kodlar. *iroN* geni, bu sideroforun dış membran reseptörünü kodlar. Bu sistem, lipokalin-2 gibi konak savunma proteinlerinin enterobaktini nötralize etmesine karşı bir kaçış mekanizması sunar (Watts ve diğerleri, 2012).
- **Yersiniabaktin (fyuA):** Yersiniabaktin, özellikle demir açısından fakir ortamlarda, örneğin insan idrarında, UPEC'in hayatta kalması ve biyofilm oluşumu için kritik bir siderofordur. *fyuA* geni, bu sideroforun ferrik demir kompleksini tanıyan dış membran reseptörünü kodlar. Bu sistem, UPEC'in serum direncine katkıda bulunur ve bazı ExPEC suşlarında da bulunur (Hancock ve diğerleri, 2008).

1.5.4 Kapsül ve LPS (lipopolisakkarit)

Kapsüller polisakkaritler, UPEC'in konak bağışıklık sisteminden kaçışında önemli rol oynamaktadır. Özellikle UPEC suşlarında sıkça rastlanan K antijenleri, fagositik hücreler tarafından tanınmayı zorlaştırarak immün kaçışa katkıda bulunur. Ayrıca, lipopolisakkarit (LPS) yapısı, güçlü bir inflamatuvar yanıtı tetikleyerek hem konak savunma mekanizmalarını sekteye uğratmakta hem de enfeksiyonun ilerlemesine zemin hazırlamaktadır (Russo ve Johnson, 2000).

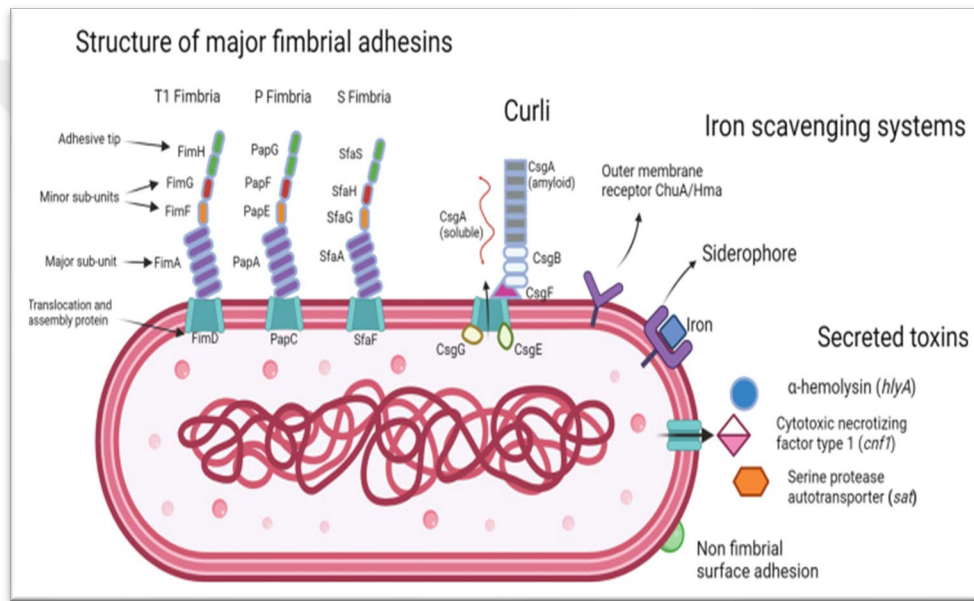
- **K1 kapsülü (kpsM, neuC):** *kps* gen kümesi bakterinin kapsül sentezini düzenlerken, *neuC* geni sialik asit biyosentezinde görev alır. Bu yapı, özellikle beyin ve böbrek gibi immün açıdan duyarlı bölgelerde enfeksiyonun yayılmasında rol oynar (Steenbergen ve Vimr, 2008).

1.5.5 Biyofilm Oluşumu

UPEC suşları, biyofilm oluşturarak çevresel streslere ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirir. Özellikle kateter ilişkili enfeksiyonlarda biyofilm yapısı tedaviyi zorlaştırır.

- **Biyofilmle ilişkili genler (*csgA*, *agn43*, *bssS*):** *csgA* geni selülöz ve amiloid fibrillerin sentezinde rol oynar. *agn43* konak hücre adezyonunu artırır, *bssS* ise biyofilm yoğunluğunu düzenler (Beloin ve diğerleri, 2008).

(Şekil 1.7) UPEC'de enfeksiyon sürecinde görev alan temel virülans faktörlerinin şematik temsili. Şekilde, tip 1, P ve S fimbriaları, curli fibrilleri, siderofor aracılı demir alım sistemleri ve çeşitli toksinlerin bakteriyel hücre üzerindeki yerleşimleri gösterilmiştir.



Şekil 1.7: UPEC'nin başlıca virülans faktörlerinin yapısal temsili (Whelan ve diğerleri, 2023).

1.6 Virülans Genlerinin Klinik Önemi

UPEC suşlarının enfeksiyon oluşturma yeteneği, sahip oldukları virülans faktörleriyle doğrudan ilişkilidir. Bu faktörleri kodlayan genlerin varlığı, bakterinin idrar yolu epitel hücrelerine tutunma, invazyon, demir alımı, toksin üretimi ve konağın bağışıklık sisteminden kaçma gibi süreçlerde avantaj sağlamasına neden olur (Flores-Mireles ve diğerleri, 2015). Bu nedenle, *fimH*, *papC*, *hlyA*, *cnf1* gibi başlıca virülans genlerinin varlığı, bir UPEC izolatının potansiyel patojenitesini ortaya koymada önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Johnson ve Russo, 2005).

Bu çalışmada tanımlanan başlıca virölans genlerinin klinik açıdan taşıdığı anlam da dikkat çekicidir. Özellikle adezinleri kodlayan genlerin (örneğin *fimH* ve *papC*) bir arada bulunması, bakterinin alt ve üst üriner sistemde etkili kolonizasyonunu kolaylaştırırken, *hlyA* ve *cnfI* gibi toksin genleri epitel hasarını artırarak enfeksiyonun şiddetini artırabilir. Demir alımıyla ilişkili genlerin (*fyuA*, *iroN* vb.) bulunması ise bakterinin konak içinde çoğalmasını kolaylaştırarak persistan enfeksiyon riskini artırabilir.

Klinik açıdan bakıldığında, bu genlerin kombinasyonları enfeksiyonun seyri, tedaviye yanıt ve nüks eden hastalıklar açısından belirleyici olabilmektedir. Birden fazla virölans genine sahip izolatların, tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları veya komplike vakalarla daha sık ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Ancak bu genlerin yokluğu ya da sayıca az olması, bakterinin hastalık oluşturma yeteneğinin tamamen ortadan kalktığı anlamına gelmez; zira enfeksiyon süreci yalnızca bakteriyel faktörlerle değil, aynı zamanda konağın bağışıklık durumu, yaşı, hormonal dengesi ve çevresel koşullarla da yakından ilişkilidir (Köves ve Wullt, 2016).

Bazı çalışmalar, yüksek virölans profiline sahip UPEC izolatlarının aynı zamanda çoklu antibiyotik direnci gösterebildiğini belirtmektedir. Bu durum, özellikle klinik vakalarda tanı ve tedavi süreçlerinin daha dikkatli yönetilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu bağlamda, virölans genlerine yönelik hızlı moleküler tanı yöntemleri, enfeksiyonun şiddetinin öngörülmesi, uygun antibiyotik seçimi ve hastane kaynaklı enfeksiyonların kontrolü açısından önemli bir katkı sunabilir. Sonuç olarak, UPEC kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının tanı, tedavi ve izlem süreçlerinde virölans gen profillerinin belirlenmesi, yalnızca bireysel hasta yönetimi açısından değil, halk sağlığı boyutunda da stratejik öneme sahiptir.

1.7 Gıda Kaynaklı İdrar Yolu Enfeksiyonları (GİYE)

Son yıllarda yapılan çalışmalar, antibiyotik dirençli *E. coli* suşlarının özellikle kümes hayvanı başta olmak üzere perakende et ürünlerinde sıkça bulunduğunu ve bu dirençli bakterilerin toplum kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabildiğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda, gastrointestinal sistemde herhangi bir belirti oluşturmada üreter sisteminde enfeksiyon gelişmesine yol açan bu yeni enfeksiyon modeli, “gıdayla bulaşan idrar yolu enfeksiyonları” (*foodborne urinary tract infections* – FUTIs) olarak adlandırılmıştır. Geleneksel gıda kaynaklı hastalıklarda enfeksiyonun ana basamağı patojenin sindirim sisteminde toksisite veya enfeksiyon oluşturmasyken, GİYE modelinde süreç iki aşamada ilerler: (1) duyarlı bireyin oral yolla bir UPEC suşunu alması ve (2) bu patojenin gastrointestinal sistemden üreter sisteme geçerek enfeksiyona neden olması. Toplumda bu bakterilerin sıkça alınabildiği gösterildiğinden, GİYE oluşumunda belirleyici basamağın patojenin üreter sisteme geçişi olduğu düşünülmektedir. Bu model, klasik gıda kaynaklı enfeksiyon paradigmasına önemli bir alternatif sunmakta ve dirençli bakterilerin gıda zinciri yoluyla yayılımının halk sağlığına olan etkisini daha geniş bir çerçevede ele alma gerekliliğini doğurmaktadır (Nordstrom ve diğerleri, 2013).

1.7.1 GİYE’nin tanımı

Gıdayla bulaşan idrar yolu enfeksiyonları, klasik gıda kaynaklı enfeksiyon kavramından ayrılan yeni bir enfeksiyon modelini temsil eder. Bu enfeksiyonlarda gastrointestinal sistemde herhangi bir klinik belirti gelişmeksizin, oral yolla alınan patojen bakterilerin üreter sisteme ulaşması ve burada enfeksiyona neden olması söz konusudur. GİYE’ler çoğunlukla antibiyotik dirençli *E. coli* suşları tarafından oluşturulur ve toplum kökenli idrar yolu enfeksiyonlarının önemli bir kısmından sorumlu tutulmaktadır. Klasik anlamda gıda kaynaklı hastalıklarda bağırsak tutulumu belirginken, GİYE’de hedef organ üreter sistemdir. Bu yönüyle GİYE, hem enfeksiyon zinciri hem de halk sağlığı açısından farklı bir yaklaşım gerektirir (Jakobsen ve diğerleri, 2010).

1.7.2 GİYE’nin epidemiyolojisi

Son yıllarda, toplumda artan antibiyotik dirençli idrar yolu enfeksiyonlarının önemli bir kısmının kaynağı olarak gıda zinciri gösterilmektedir. Özellikle perakende et ürünlerinde, başta kümes hayvanları olmak üzere, UPEC suşlarının varlığı sıkça raporlanmaktadır. Bu bakteriler, antibiyotik direnci genlerini taşımanın yanı sıra, konak savunma mekanizmalarını aşma ve üreter sistemde kolonize olma yeteneklerine de sahiptir. GİYE’lerin görülme sıklığı

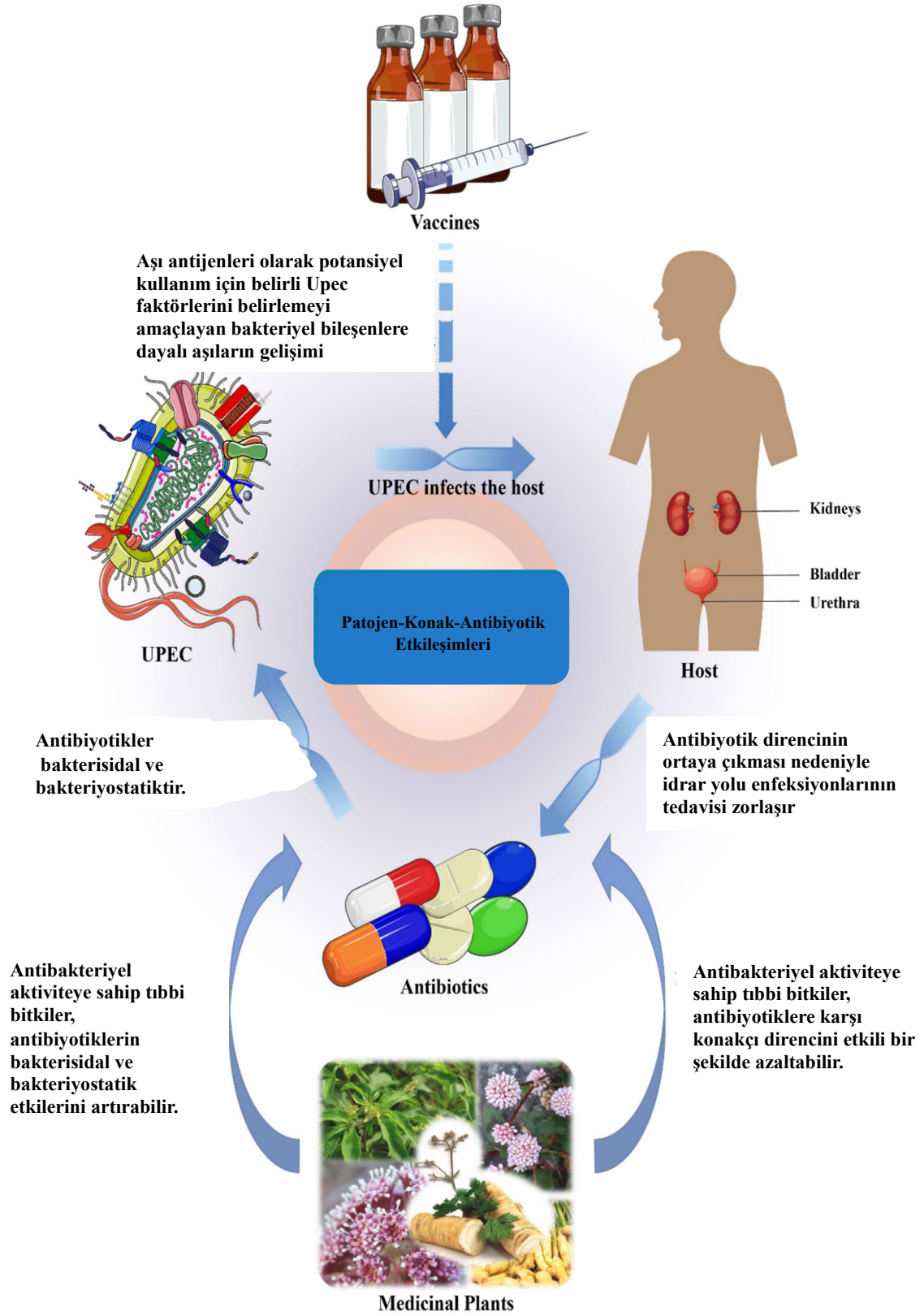
coğrafi bölgeye, gıda üretim sistemlerine, antibiyotik kullanımına ve hijyen koşullarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Ancak genel eğilim, bu enfeksiyonların giderek artmakta olduğuna işaret etmektedir (Priyanka ve diğerleri, 2023).

1.7.3 GİYE'nin bulaş mekanizması

GİYE gelişimi, iki aşamalı bir bulaş sürecine dayanır:

1. **Oral Alım:** Birey, antibiyotik dirençli bir üropatojen bakteriyi kontamine gıda (çoğunlukla az pişmiş et ürünleri) aracılığıyla ağız yoluyla alır. Bu bakteriler genellikle gastrointestinal sistemi kolonize eder.
2. **Translokasyon:** Alınan patojen, gastrointestinal sistemde herhangi bir belirti oluşturmadan, konak faktörleri veya bakteriyel virülans mekanizmaları aracılığıyla üriner sisteme ulaşarak enfeksiyona yol açar.

Bu modelde, hastalık gelişimini sınırlayan temel basamak, bakterinin gastrointestinal sistemden üriner sisteme geçiş sürecidir. Patojenin geçiş başarısı; konak savunma durumu, mikrobiyotanın bileşimi, patojenin virülans profili ve çevresel faktörler gibi birçok değişkene bağlıdır (Şekil 1.8) (García ve diğerleri, 2023; Singer, 2015).



Şekil 1.8: UPEC enfeksiyonlarında patojen-konak etkileşimi ile antibiyotik, tıbbi bitki ve aşılarda tedavi rollerini gösteren şematik model (Zhou ve diğerleri, 2023).

1.7.4 Süt ve süt ürünlerinin GİYE'deki rolü

ExPEC suşları, insanlarda idrar yolu enfeksiyonları, neonatal sepsis ve menenjit gibi çeşitli ciddi sistemik enfeksiyonların etkeni olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda, bu suşların yalnızca insan kaynaklı değil, aynı zamanda çeşitli hayvansal kaynaklı gıdalardan da izole edilebildiği gösterilmiş ve bu durum, ExPEC'in potansiyel bir zoonotik patojen olarak değerlendirilmesine yol açmıştır. Bu bağlamda, özellikle çiğ süt ve çiğ süttten yapılan geleneksel peynirler gibi süt ürünleri, ExPEC suşlarının potansiyel bulaş kaynakları arasında yer almaktadır.

Mastitis etiolojisinde ExPEC suşlarının katkısı, çiğ süütün bu tür patojenlerin potansiyel bir vektörü olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulaşma yolunu açıklayan veriler halen oldukça sınırlıdır; ancak, bazı çalışmalar çiğ süt ürünlerine dair ön bilgi sunmaktadır.

Meksika'da yürütülen bir çalışmada, pastörize edilmemiş beş farklı taze peynir türünden toplam 52 örnek incelenmiş ve bunların 15'inden (% 29) potansiyel olarak UPEC suşları olmak üzere 31 izolat elde edilmiştir (Guzman-Hernandez ve diğerleri, 2016).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, gıda kaynaklı patojenlerin yalnızca gastrointestinal sistemle sınırlı etkilerinin ötesine geçerek, ekstraintestinal enfeksiyonlara, özellikle de idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabileceğini ortaya koymuştur. Gıda zinciri üzerinden bulaşan *E. coli* suşlarının, toplum kökenli İYE etiolojisinde önemli bir rol oynayabileceği yönündeki bulgular, "gıda kaynaklı İYE (FUTI)" kavramının önemini artırmaktadır. Bu bağlamda, FUTI kavramı hem halk sağlığı politikalarının yeniden şekillendirilmesini hem de gıda güvenliği ve enfeksiyon kontrol stratejilerinin daha bütüncül bir yaklaşımla ele alınmasını gerekli kılmaktadır.

1.8 Analiz Yöntemleri

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının tanımlanması ve karakterizasyonu için çeşitli mikrobiyolojik ve moleküler analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler, bakterinin tür tayini, fenotipik özelliklerinin belirlenmesi, antibiyotik duyarlılığı ve virülans genlerinin saptanması gibi farklı düzeylerde bilgi sağlar. İlk aşamada bakteriyel izolasyon ve ön tanımlama için selektif ve diferansiyel besiyerleri ile koloni morfolojisi değerlendirilirken, klasik biyokimyasal testler (örneğin IMViC) ile tür doğrulaması yapılır. Daha sonra, bakterinin antibiyotiklere karşı duyarlılığı genellikle Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle araştırılır. Son olarak, moleküler teknikler kullanılarak virülans faktörlerini kodlayan genlerin varlığı PZR ile tespit edilir. Bu bölümde, araştırmada kullanılan her bir

analiz yönteminin amacı, uygulama şekli ve *E. coli* için beklenen sonuçları detaylı olarak açıklanacaktır.

1.9 Kültürel Yöntemlerle *E. coli*'nin Ön Teşhisi

Bakterilerin ön tanımlanmasında kültürel yöntemler temel bir adımdır. Bu aşamada, bakterilerin seçici ve/veya diferansiyel besiyerlerinde oluşturdukları koloni morfolojileri değerlendirilerek olası *E. coli* varlığı hakkında ön bilgi elde edilmiştir. Bu çalışmada McConkey (MAC) agar, Nutrient agar ve Eozin Metilen Mavi (EMM) agar kullanılmış; her bir besiyeri, *E. coli*'nin belirli fenotipik özelliklerini ayırt etmeye olanak tanımıştır. MAC agar laktoz fermentasyonu temelli ayırımı sağlarken, Nutrient agar saf koloni izolasyonu için kullanılmıştır. EMB agar ise *E. coli*'nin karakteristik metalik yeşil röfle oluşturarak diğer bakterilerden ayırt edilmesini mümkün kılmıştır. Aşağıda her bir besiyerine ilişkin gözlemler ve değerlendirmeler ayrı ayrı sunulmuştur.

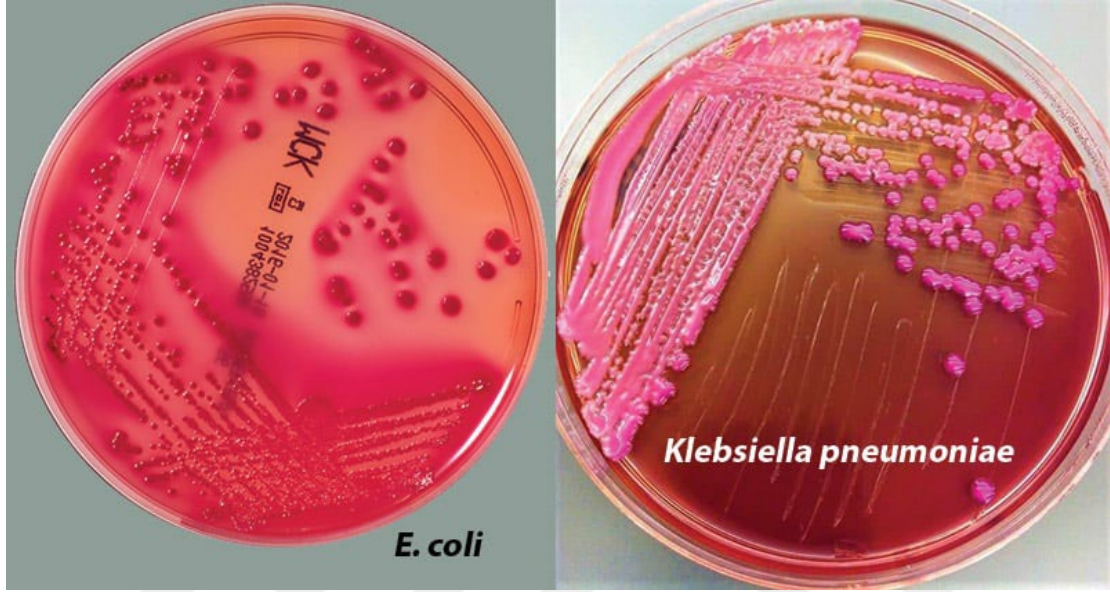
1.9.1 McConkey agarda koloni morfolojisi

İzole edilen bakteriyel etkenlerin ön tanımlanmasında selektif ve diferansiyel besiyerleri önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada ilk değerlendirme, Gram negatif enterik bakterilerin ayırımı sağlayan MAC agar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MAC agar, safra tuzları ve kristal viyole içeriği sayesinde Gram pozitif bakterilerin çoğalmasını engelleyerek yalnızca Gram negatif bakterilerin büyümesine olanak tanır. Aynı zamanda laktoz ve nötral kırmızı indikatörü içeren diferansiyel yapısıyla laktoz fermentasyonunu değerlendirmeyi mümkün kılar (Cheesbrough, 2006).

Laktoz negatif bakteriler ortamda asit üretmediği için pH düşüşü oluşmaz. Bu durumda pH indikatörünün rengi değişmez ve koloniler soluk, açık gri ya da renksiz olarak görülür. *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Proteus* spp. gibi patojenik enterik bakteriler genellikle bu şekilde görünür. Ayrıca, bu tür bakterilerin oluşturduğu kolonilerin etrafında zamanla alkalileşme nedeniyle nötral kırmızı indikatörün sararması da gözlemlenebilir. (Cheesbrough, 2006).

Laktoz fermentasyonu yapan bakteriler ise (örneğin *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*) ortamda asit üretir, bu da ortam pH'sını düşürerek pH indikatörünün renk değişimine neden olur. Bunun sonucunda bu bakteriler, parlak pembe-kırmızı renkte koloniler oluşturur. Özellikle *E. coli*, 24 saatlik 35–37 °C'de inkübasyon sonrası genellikle orta büyüklükte, konveks, nemli, düzgün kenarlı ve yoğun pembe-kırmızı renkli koloniler oluşturur (Jung ve Hoilat, 2024).

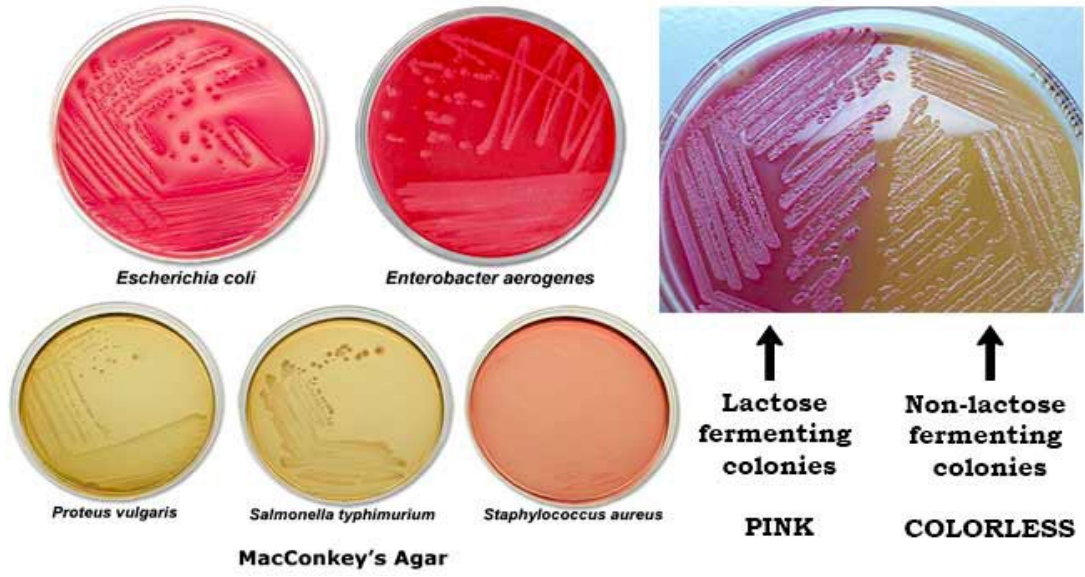
Klebsiella ve *Enterobacter* türleri de laktoz pozitif olup benzer renkte koloniler oluşturabilirler. Ancak bu türlerin kolonileri genellikle daha büyük, mukoid (yapışkan görünümlü) ve yükselti açısından daha belirgindir (Şekil 1.9). Örneğin, *Enterobacter aerogenes* genellikle büyük, parlak, mukoid ve konveks pembe koloniler yapar; bu durum kapsül varlığından kaynaklanır ve *E. coli*'den ayırt edilmesine yardımcı olabilir (Balows, 2003).



Şekil 1.9: *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin MAC agarda oluşturduğu laktoz fermentasyonu pozitif koloni morfolojileri (Aryal, 2022).

Agar yüzeyinde genel renk dağılımı da kolonilerin laktoz fermentasyonuna göre değişebilir. Laktoz pozitif yoğun gelişimde, agar zemini de genel olarak pembemsi bir ton alırken; laktoz negatiflerin yoğun gelişiminde agar daha soluk ya da renksiz kalır (Şekil 1.10).

Bu özellikleri sayesinde MAC agar, çiğ süt gibi çok çeşitli mikroorganizma içeren örneklerde ilk basamakta potansiyel enterik patojenlerin ayıklanmasında etkili bir araçtır. Bununla birlikte, benzer koloni morfolojisi gösterebilen bakteriler arasında ayırım yapılabilmesi için ilave biyokimyasal veya moleküler testlerin uygulanması gerekmektedir.



Şekil 1.10: Farklı bakteri türlerinin MAC agar üzerindeki koloni morfolojileri (Aryal, 2022).

1.9.2 Nutrient agarda tek koloni izolasyonu

Tek koloni izolasyonu, mikrobiyal kültürlerde saf (homojen) bakteri kültürü elde etmek amacıyla kullanılan temel bir yöntemdir. Nutrient agar, bakterilerin genel büyümesi için uygun zengin bir besiyeri olması nedeniyle tek koloni izolasyonunda yaygın olarak tercih edilir. Bu yöntem, *E. coli* gibi bakteri türlerinin saf kültürlerinin elde edilmesinde kritik öneme sahiptir (Atlas, 2010).

MAC agarda istenilen özelliklere sahip kolonilerden steril bir inokülasyon halkası yardımıyla az miktarda bakteri örneği alınır. Bu örnek nutrient agar yüzeyine tek koloni düşürme tekniği kullanılarak ekilir. Plakalar, bakterilerin üremesi için ters çevrilerek 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edilir. İnkübasyonun sonunda agar yüzeyinde tekil ve iyi ayrılmış koloniler seçilir. Bu tek koloniler, saf kültür elde etmek amacıyla yeni nutrient agar plakalarına tek koloni düşürme yöntemine göre ekilir (Madigan ve diğerleri, 2019).

Nutrient agar üzerinde *E. coli* kolonileri genellikle küçük ila orta büyüklükte, yuvarlak, parlak ve nemli görünümde olur. Kolonilerin rengi kremden açık sarımsı tonlara kadar değişebilir. Bu karakteristikler, diğer mikroorganizmalardan ayırt edilmesini sağlar (Atlas, 2010).

1.9.3 Eozin metilen mavi agar koloni morfolojisi

EMM agar, Gram negatif bakterilerin seçici ve ayırt edici bir şekilde izole edilmesi için kullanılan diferansiyel bir besiyeridir. Özellikle laktoz fermantasyonu yapan bakterileri ayırt

etmede etkilidir. EMM agarda *E. coli* kolonileri, laktozu hızlı fermente etmesi sonucu oluşan asidik ortamda boyalarla etkileşime girerek karakteristik yeşilimsi metalik röfle oluşturur. Bu belirgin görüntü, *E. coli*'nin ön tanısı için önemli bir göstergedir (Madigan ve diğerleri, 2019.)

Nutrient agar üzerinde saf koloni olarak elde edilen kültürden steril bir inokülasyon halkasıyla örnek alınır ve EMM agara çizim yapılır. Plakalar ters çevrilerek 37°C'de 18-24 saat inkübe edilir. Bu süre sonunda kolonilerin renkleri, parlaklığı ve metalik röfle varlığı değerlendirilir. EMM agardaki seçici bileşenler (eozin ve metilen mavisi), Gram pozitif bakterilerin çoğalmasını baskımlarken Gram negatif bakterilerin üremesine olanak sağlar. Aynı zamanda laktoz fermentasyonuna göre koloni görünümü değişiklik gösterir (Willey ve diğerleri, 2017).

E. coli, EMM agarda laktozu kuvvetli fermente ettiği için çevresini asitleştirir. Bu durum, metilen mavisi ve eozin boyalarının çökelerek koloni yüzeyinde yeşilimsi metalik bir parlaklık (röfle) oluşturmaya neden olur. Bu görüntü *E. coli* 'ye özgü sayılabilecek kadar ayırt edicidir ve diğer Enterobacteriaceae üyelerinden kolaylıkla ayrılmasına yardımcı olur. Zayıf fermentatör bakteriler (örneğin *Enterobacter* spp.) genellikle pembe-mor koloniler oluştururken, laktoz fermente etmeyenler (örneğin *Salmonella*, *Shigella*) renksiz veya şeffaf koloniler oluşturur (Willey ve diğerleri, 2017).

1.10 Biyokimyasal Yöntemlerle *E. coli* Tanımlaması

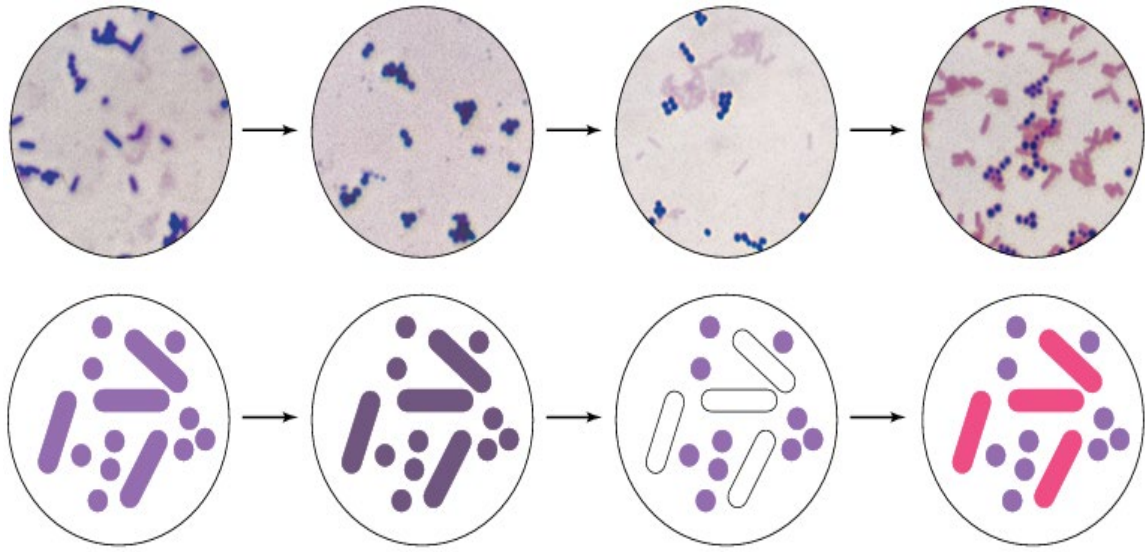
Kültürel yöntemlerin ardından elde edilen bakteri kolonilerinin tür düzeyinde doğrulanması amacıyla biyokimyasal testler uygulanmıştır. Bu testler, bakterilerin hücre duvarı yapısı, enzimatik aktiviteleri ve karbonhidrat metabolizmasına dayalı olarak tanımlanmasını sağlar. Bu çalışmada öncelikle Gram boyama ile hücre duvarı özellikleri incelenmiş; ardından katalaz testi ile bakterilerin katalaz enzimi üretimi araştırılmıştır. Ayrıca üçlü şeker demir (TSI) testi ve IMViC testleri ile metabolik profilleri değerlendirilmiştir. Bu testler, *E. coli*'nin diğer enterik bakterilerden ayırt edilmesinde önemli bir rol oynar.

1.10.1 Gram boyama

Gram boyama, bakterileri hücre duvarı yapısına göre Gram pozitif ve Gram negatif olarak ayırmayı sağlayan temel bir boyama yöntemidir. Bu yöntem, bakterinin morfolojisi ve hücre duvarının kimyasal yapısı hakkında ön bilgi sağlar. Gram pozitif bakteriler kalın peptidoglikan tabakasına sahip oldukları için boyama sırasında mor renkte görünürken, Gram negatif bakteriler ince peptidoglikan tabakası, kalın lipit tabakası ve dış membran

yapıları nedeniyle boyayı tutamaz ve kırmızı-pembe renkte gözlemlenirler (Willey ve diğerleri, 2017).

Bu çalışmada izole edilen şüpheli kolonilere Gram boyama uygulanarak hücre duvarı yapısı değerlendirilmiş ve mikroskopik morfoloji gözlemlenmiştir. *E. coli* Gram negatif bir bakteri olduğundan, boyama sonucunda çubuk (basillus) şeklinde ve pembe-kırmızı renkte gözlemlenmesi, tür tanımlamasını destekleyen önemli bir fenotipik bulgu olmuştur (Şekil 1.11). Bu sonuç, kültürel özelliklerle birlikte değerlendirildiğinde, izolatların *E. coli* olabileceğine dair ilk biyolojik kanıtı sağlamıştır (Cappuccino ve Welsh, 2019)



Şekil 1.11: Gram boyama sonrası hücrelerin mikroskopik görüntüsü (Cappuccino ve Welsh, 2019).

1.10.2 Üçlü şeker demir testi

Üçlü Şeker Demir (Triple Sugar Iron – TSI) agar testi, enterik bakterilerin karbonhidrat fermentasyonu, gaz ve hidrojen sülfür (H_2S) üretim kapasitelerinin değerlendirilmesini sağlayan çok amaçlı bir tanımlama testidir. Besiyerinde glikoz, laktoz ve sakkaroz gibi üç farklı şekerin yanı sıra demir tuzları ve H_2S indikatörleri bulunur. Bu sayede bakterilerin çeşitli metabolik özelliklerine bağlı olarak besiyerinde farklı renk değişimleri ve fiziksel değişiklikler meydana gelir (Leboffe ve Pierce, 2015).

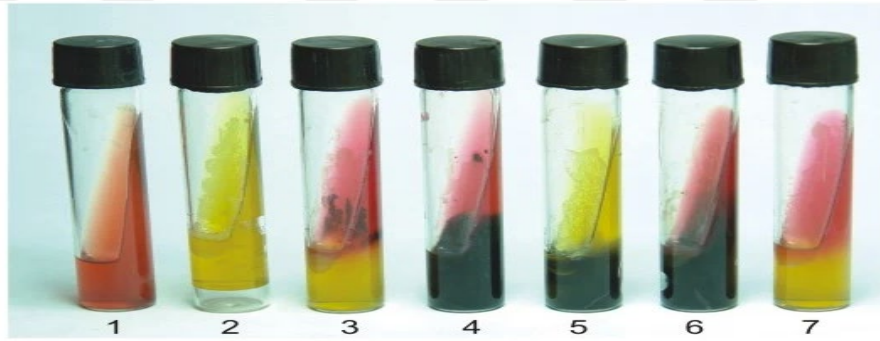
TSI agarın ilk olarak 1940'lı yıllarda Sulkin ve Willett tarafından, Enterobacteriaceae üyelerini ayırt etmeye yönelik olarak geliştirildiği, daha sonra Hajna'nın 1945 yılında yaptığı modifikasyonla günümüzdeki formuna ulaştığı belirtilmektedir. Bu haliyle TSI, günümüzde hâlâ Gram-negatif enterik patojenlerin ön tanısında yaygın şekilde kullanılmaktadır (Dahal, 2023).

TSI testi başlıca şu amaçlarla kullanılır:

- ✓ Bakterinin hangi şekerleri fermente edebildiğini belirlemek
- ✓ Fermentasyon sonucu asit ve gaz üretimini gözlemlemek
- ✓ H₂S üretimi gibi sülfür metabolizmasına dair bilgi edinmek

E. coli türü bu testte genellikle glikozun yanı sıra laktoz ve/veya sakkarozu da fermente eder. Bu nedenle hem eğik (slant) hem de dip (butt) kısımlarda asit üretimine bağlı sararma gözlenir (Leff, 2024). Ayrıca fermentasyon sırasında gaz oluşumu nedeniyle agar ortamında çatlaklar veya gaz boşlukları oluşabilir (Şekil 1.12). *E. coli* genellikle H₂S üretmediği için siyah renk oluşumu gözlenmez (Dahal, 2023).

Bu testten elde edilen sonuçlar, *E. coli*'nin diğer enterik bakterilerden ayırt edilmesinde ve fenotipik tanısının desteklenmesinde önemli rol oynar.



Şekil 1.12: TSI testinde yaygın enterik patojenlerin sonuçları (Dahal, 2023)

Görselde TSI testine ait kontrol ve farklı bakteriyel referans suşlarının (ATCC numaralarıyla birlikte) oluşturduğu renk değişimleri gösterilmektedir. Kontrol, 1; *E. coli* ATCC 25922, 2; *Salmonella Typhi* ATCC 6539, 3; *Proteus vulgaris* ATCC 13315, 4; *Citrobacter freundii* ATCC 8090, 5; *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, 6; *Shigella flexneri* ATCC 12022, 7.

1.10.3 IMViC testleri

IMViC testi, Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerin biyokimyasal özelliklerini değerlendirmek ve türleri ayırt etmek amacıyla kullanılan dört temel testin birleşimidir. Bu testler Indol (I), Methyl Red (MR), Voges-Proskauer (VP) ve Citrate (C) testlerinden oluşur (Dahal, 2024). IMViC testi, özellikle bağırsak kaynaklı patojen bakterilerin tanımlanmasında kritik bir araçtır. Bakterilerin metabolik farklılıklarını ortaya koyarak özellikle *E. coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* gibi bakterileri ayırt etmeyi sağlar. Bu testler, bakterilerin triptofan metabolizması, asit üretimi, asetoin üretimi ve karbon kaynağı olarak sitrat kullanım yeteneklerini inceleyerek fenotipik tanıma olanak tanır (Cappuccino ve Welsh, 2019).

Bu testler, özellikle Enterobacterales üyelerinin ayrımında sıkça başvurulmuş temel biyokimyasal analizlerden biridir. Testler, yalnızca Gram negatif bakterilerin değil, bazı Gram pozitif mikroorganizmaların tanımlanmasında da yardımcı olabilmektedir. Klinik laboratuvarlarda hem araştırma hem de eğitim amaçlı olarak yaygın biçimde uygulanmakta olup, pratik ve hızlı sonuç vermeleri sayesinde ilk tarama basamağında değerlidir. Testlerin kolay uygulanabilirliği ve 24–48 saat içinde sonuçlanması, onları rutinde tercih edilen tanı araçları arasına yerleştirmektedir (Dahal, 2024)

- ✓ **İndol Testi:** İndol Testi, bakterilerin triptofan adlı amino asidi metabolize etme yeteneklerini değerlendiren biyokimyasal bir testtir. Bazı bakteriler, triptofanaz enzimi aracılığıyla triptofanı indole, pirüvata ve amonyağa dönüştürebilir. Bu metabolik aktivitenin varlığını saptamak amacıyla, inkübasyon sonrası ortama Kovac's reaktifi eklenir. Reaktifle indol arasında gerçekleşen reaksiyon sonucunda üstte kırmızı renkli bir halka oluşması, testin pozitif olduğunu gösterir. Eğer bu renk değişimi gözlenmezse test negatif kabul edilir (Cappuccino ve Welsh, 2019).

Bu test, özellikle *E. coli* gibi indol üretebilen bakterilerin tanımlanmasında klinik ve araştırma laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu testin sonucu *E. coli* için genellikle pozitif olurken bu özellik, onu diğer Enterobacteriaceae üyelerinden ayırt etmede önemli bir kriter oluşturur (Dahal, 2024).

- ✓ **Metil Kırmızı Testi:** Bir bakterinin glikozu kararlı (stabil) asit son ürünlerine kadar fermente edip etmediğini değerlendiren önemli bir biyokimyasal testtir. Bu testte kullanılan bakteriler, eğer glikozu laktik, asetik veya formik asit gibi sabit asitlere dönüştürebiliyorsa, kültür ortamının pH'ı önemli ölçüde düşer. İnkübasyonun ardından ortama MR indikatörü eklenir. Ortam pH'ı 4.4 veya altına düştüğünde, MR reaktifi kırmızı renk alır ve test pozitif kabul edilir. Daha yüksek pH'larda ise sarı veya turuncu renk gözlenir ve bu durum negatif sonuç olarak değerlendirilir. *E. coli*, MR testinde genellikle pozitif sonuç verir, bu da onun glikozu fermente ettiğini gösterir (Madigan ve diğerleri, 2019).

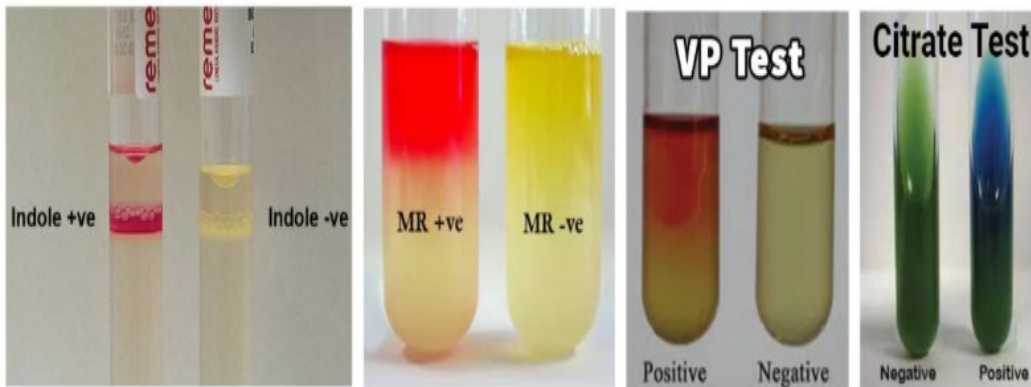
- ✓ **Voges-Proskauer Testi:** Bakterilerin glikozu fermente ederken asetoin (asetil metil karbinol) adlı nötral bir ara ürün üretip üretmediğini belirlemeye yönelik bir biyokimyasal testtir. Bazı bakteriler, glikoz fermentasyonu sonucu kararlı asitler yerine nötral son ürünler, özellikle de asetoin ve ardından 2,3-butanediol gibi bileşikler üretir. Bu testte, inkübasyonun ardından ortama Barritt A (α -naftol) ve Barritt B (potasyum hidroksit) reaktifleri eklenir. Asetoinin bu reaktiflerle oksidasyonu sonucunda ortamda

kırmızı bir renk gelişimi, testin pozitif olduğunu gösterir. Renk oluşmazsa test negatif olarak değerlendirilir. *Enterobacter*, *Klebsiella* ve benzeri bakteriler genellikle VP testinde pozitif sonuç verirken, *E. coli* gibi türler genellikle negatif sonuç verir (Madigan ve diğerleri, 2019).

- ✓ **Sitrat Testi:** Bakterilerin sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanabilme yeteneklerini değerlendiren bir biyokimyasal analizdir. Bu testte Simmons sitrat agarı kullanılır; bu ortamda sitrat, bakteriler için hem karbon hem de enerji kaynağı olarak sunulur. Eğer bakteri, sitratı kullanabiliyorsa ortamdaki amonyum fosfat da azot kaynağı olarak kullanılır ve metabolizma sonucunda alkali yan ürünler açığa çıkar. Bu alkalileşme, besiyerinde bulunan bromtimol mavisi indikatörünün rengini yeşilden maviye çevirir; bu renk değişimi testin pozitif olduğunu gösterir. Renk değişiminin olmaması ise sitratın kullanılmadığını ve testin negatif olduğunu gösterir.

Sitrat testi, başta *Enterobacter* ve *Klebsiella* türleri olmak üzere birçok enterik bakteri grubunun ayırt edilmesinde kullanılır. Bu bakteriler genellikle pozitif sonuç verirken, *E. coli* çoğunlukla bu testte negatif sonuç gösterir (Dahal, 2024).

IMViC testi, bakterilerin metabolik kapasitelerindeki farklılıkları ortaya koyarak klinik ve laboratuvar tanısında yaygın olarak kullanılır (Şekil 1.13). Örneğin, *E. coli* genellikle I (pozitif), MR (pozitif), VP (negatif), C (negatif) (+, +, -, -) profiline sahipken, *Enterobacter* ve *Klebsiella* türleri tam tersini gösterir: I-, MR-, VP+, C+. Bu farklılıklar sayesinde, benzer kolonilere sahip bakteriler güvenilir bir şekilde ayrıştırılabilir (Leboffe ve Pierce, 2015).



Şekil 1.13: IMViC testlerinde pozitif ve negatif sonuçların görsel temsili (Dahal, 2023).

1.10.4 Katalaz testi

Katalaz testi, bakterilerin katalaz enzimi üretip üretmediğini belirlemek için kullanılan önemli biyokimyasal testlerden biridir. Katalaz enzimi, bakterilerin metabolik süreçlerinde oluşan toksik hidrojen peroksiti (H_2O_2) su ve oksijen gazına dönüştürerek zararlı etkilerden korunmalarını sağlar (MacFaddin, 2000). Test, bakteriyel kültür üzerine birkaç damla hidrojen peroksit uygulanarak gerçekleştirilir; pozitif reaksiyon, kısa sürede oluşan kabarcıklar (oksijen gazı) ile gözlemlenir. Bu test, özellikle Gram-pozitif bakteriler arasında stafilokoklar ve streptokokların ayırımında yaygın olarak kullanılmakla birlikte, Gram-negatif bakterilerde de katalaz aktivitesi araştırılabilir (Madigan ve diğerleri, 2019) *E. coli* gibi enterik bakteriler genellikle katalaz pozitif sonuç verir, ancak tanımlamada diğer biyokimyasal testlerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

1.10.5 Oksidaz testi

Oksidaz testi, bakterilerin sitokrom c oksidaz enzimine sahip olup olmadığını belirlemek amacıyla kullanılan hızlı ve pratik bir biyokimyasal testtir. Bu enzim, bakterilerin elektron transport zincirinde oksijenin son elektron alıcısı olarak kullanılmasıyla aerobik solunumu destekler. Gram-negatif bakteriler arasında oksidaz testi özellikle önemli bir ayırıcı özelliktir; Enterobacteriaceae üyeleri genellikle oksidaz negatif iken Pseudomonas, Neisseria ve bazı Vibrio türleri oksidaz pozitifdir (Forbes ve diğerleri, 2007).

Oksidaz testi, süt ve süt ürünlerinden izole edilen bakterilerin tür düzeyinde veya cins düzeyinde ön tanımlanmasında önemli bir aşama oluşturur. Çiğ süt kaynaklı mikrobiyolojik analizlerde özellikle Enterobacteriaceae üyelerinin ayırıcı tanısında oksidaz testi negatif sonuç verirken, diğer oksidaz pozitif Gram-negatif çubukların dışlanmasına yardımcı olur (Quinn ve diğerleri, 2011). Bu nedenle, çiğ süt örneklerinde *E. coli* gibi oksidaz negatif bakterilerin izolasyonu ve tanımlanması sırasında oksidaz testi temel bir tarama testi olarak kullanılmaktadır.

1.11 Antibiyotik Duyarlılık Testi (Antibiyogram)

Antibiyotik duyarlılık testi, izole edilen bakteriyel suşların farklı antibiyotiklere karşı duyarlılık veya direnç durumunun belirlenmesi amacıyla yapılan önemli bir laboratuvar analizidir (CLSI, 2022). Bu test, uygun antibiyotik tedavisinin seçilmesinde kritik rol oynar ve bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç mekanizmalarının izlenmesini sağlar (Jorgensen ve Ferraro, 2009). Çalışmada, *E. coli* izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılığı standart disk difüzyon yöntemi (Kirby-Bauer testi) kullanılarak değerlendirilmiştir. Çizelge

1.2’de çalışma kapsamında kullanılan antibiyotiklerin türleri ve etki mekanizmaları ile ilgili bilgiler görülmektedir. Bu yöntemde, belirli antibiyotik diskleri besiyerine yayılan bakteri kültürleri üzerine yerleştirilir ve inkübasyon sonrası oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek duyarlılık yorumlanır (CLSI, 2022). Test sonuçları, hastalıkların etkili tedavisi ve antibiyotik direnç profilinin izlenmesi açısından klinik ve epidemiyolojik açıdan önem taşımaktadır.

Çizelge 1.2: Bazı antibiyotiklerin türleri ve etki mekanizmaları.

Antibiyotik	Ana Grup	Alt Grup / Türü	Kısa Açıklama
Fosfomisin (FOS)	Fosfomisinler	Fosfomisinler	Hücre duvarı sentez inhibitörü
Nitrofurantoin	Nitrofurantoinler	Nitrofurantoinler	DNA/RNA/protein sentez inhibitörü, nitrofuran türevi
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	Foliat antagonisti	Kombinasyon (folat yolu inhibitörü)	Folat sentezi ardışık basamak inhibisyonu
Gentamisin	Aminoglikozidler	Deoksistreptamin türevi aminoglikozid	30S ribozom inhibisyonu, bakterisidal
Nalidiksik Asit	Kinolonlar	1. Kuşak Kinolon	DNA giraz inhibisyonu, Gram negatif etki
Norfloxacin	Kinolonlar	2. Kuşak Fluorokinolon	DNA giraz/topoizomeras IV inhibisyonu
Ciprofloxacin	Kinolonlar	2. Kuşak Fluorokinolon	Geniş spektrumlu, güçlü Gram negatif aktivite
Ampisilin	Beta-laktamlar	Penisilinler	Hücre duvarı sentezi inhibisyonu
Piperasilin/ Tazobaktam	Beta-laktamlar	Geniş spektrumlu Penisilin + beta-laktamaz inhibitörü	Hücre duvarı sentezi inhibisyonu ve beta-laktamaz inhibisyonu
Amoksisilin/ Clavulanik Asit	Beta-laktamlar	Penisilin + beta-laktamaz inhibitörü	Hücre duvarı sentezi inhibisyonu ve beta-laktamaz inhibisyonu
Cefotaksim	Beta-laktamlar	3. Kuşak Sefalosporinler	Hücre duvarı sentezi inhibisyonu
Cefepim	Beta-laktamlar	4. Kuşak Sefalosporinler	Geniş spektrumlu hücre duvarı sentezi inhibisyonu
Ceftazidim	Beta-laktamlar	3. Kuşak Sefalosporinler	Gram negatiflere güçlü etkili
Cefuroksim	Beta-laktamlar	2. Kuşak Sefalosporinler	Orta geniş spektrumlu
Sefalotin	Beta-laktamlar	1. Kuşak Sefalosporinler	Gram pozitif ağırlıklı
Ertapenem	Beta-laktamlar	Karbapenemler	Geniş spektrumlu beta-laktam, beta-laktamaz dayanıklı
Meropenem	Beta-laktamlar	Karbapenemler	Geniş spektrumlu beta-laktam, beta-laktamaz dayanıklı

1.12 Moleküler Yöntemler

- **Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):** Hedef DNA dizilerinin in vitro koşullarda enzimatik olarak çoğaltılmasına olanak sağlayan, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip bir moleküler biyoloji tekniğidir (Mullis ve Faloona, 1987) Bu yöntem, çalışmada izole edilen *E. coli* suşlarında UPEC ile ilişkili spesifik virülans genlerinin (örneğin *papC*, *hlyA*, *fimH* gibi) tespiti amacıyla uygulanmıştır. Moleküler tanımlama, konvansiyonel biyokimyasal testlerle belirlenemeyen genetik özelliklerin doğrulanmasında önemli bir aşamadır.

PZR üç temel basamaktan oluşur:

1. Denatürasyon (DNA'nın iki zincire ayrılması), reaksiyon karışımındaki çift sarmallı DNA, yaklaşık 94–95 °C'de ısıtılarak tek zincirli hale getirilir.
2. Primerlerin bağlandığı (annealing), sıcaklık 50–65 °C'ye düşürülerek, hedef DNA sekanslarına özgü kısa primer dizilerinin kalıp DNA'ya bağlanması sağlanır.
3. Uzama (ekstensiyon), hedef DNA dizisinin DNA polimeraz enzimi tarafından sentezlendiği evre. Taq DNA polimeraz enzimi, 72 °C'de primerlerin 3' ucundan başlayarak hedef DNA sekansının sentezini gerçekleştirir.

Bu döngü, termal döngüler aracılığıyla genellikle 30-40 kez tekrarlanarak milyonlarca kopya üretimini sağlamaktadır (Smith ve Osborn, 2009).

Reaksiyon karışımı; kalıp DNA, forward ve reverse primer çiftleri, dNTP'ler (deoksiribonükleotid trifosfatlar), tampon solüsyonu, MgCl₂ ve ısıya dayanıklı DNA polimeraz (genellikle Taq polimeraz) içerir. Her bir primer çifti, analiz edilmek istenen belirli bir virülans genine özgü olarak tasarlanmıştır. Amplifikasyon işlemi, termal döngü cihazı (termal cycler) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

PZR ürünlerinin varlığı ve boyutu, etidyum bromid (EtBr) ile boyanmış %2-2.5 agaroz jelde elektroforez yapılarak ve UV transillüminatör altında görüntülenerek doğrulanmıştır. Elde edilen bantlar moleküler ağırlık belirteçleri (DNA ladder) ile karşılaştırılarak yorumlanmıştır. Bu yöntem, çalışmada UPEC suşlarının varlığına dair moleküler düzeyde kesinlik sağlanmasında önemli rol oynamıştır. (Smith ve Osborn, 2009).

Bu çalışmanın temel amacı, çiğ süt örneklerinde *E. coli*'nin prevalansını belirlemek ve izole edilen suşlar arasında üropatojenik potansiyele sahip olanları tanımlayarak, bunlarda bulunan spesifik virülans genlerini moleküler düzeyde araştırmaktır. Böylece,

gıda kaynaklı potansiyel patojenlerin halk sağlığı açısından taşıdığı riskleri ortaya koymak ve süt ürünleri yoluyla bulaşabilecek zoonotik suşların varlığını göstermek hedeflenmektedir. Ayrıca, elde edilen veriler ışığında çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesine ilişkin önemli bilgiler sunularak sağlık açısından koruyucu önlemlerin geliştirilmesine katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

Bu kapsamda, çalışma sadece gıda kaynaklı kontaminasyonun sıklığını değil, aynı zamanda çiğ süt tüketimi yoluyla insanlara bulaşma riski taşıyan, antibiyotiklere dirençli ve virölans faktörleri yüksek UPEC suşlarının varlığını ortaya koymayı hedeflemektedir. Böylece, hem süt hayvancılığı işletmeleri hem de tüketici sağlığı açısından önemli bir biyogüvenlik problemi olan çiğ sütle bulaşan patojenlerin risk düzeyi ortaya konulacaktır. Çalışmadan elde edilecek bulgular, özellikle süt ve süt ürünleri sektöründe hijyen uygulamalarının önemini vurgulamakta, antibiyotik direnci ve zoonotik bulaş yönünden halk sağlığını tehdit eden etkenlerin izlenebilirliğine katkı sağlamaktadır. Ayrıca bu verilerin, gelecekte moleküler epidemiyolojik çalışmaların temelini oluşturmaları ve yerel/ulusal düzeyde kontrol stratejilerinin geliştirilmesine bilimsel dayanak teşkil etmesi amaçlanmaktadır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çiğ süt, özellikle pazar yerleri ve yerel marketler gibi kaynaklardan temin edildiğinde, mikrobiyolojik kontaminasyon riski yüksek olan bir gıda maddesidir. Bu durum, halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmakta olup, çeşitli patojen mikroorganizmaların çiğ süte bulaşması sonucunda gıda kaynaklı enfeksiyonlar görülebilmektedir (Jay, 2000). *E. coli*, bağırsak florasının normal bir üyesi olmasına rağmen, bazı patojenik suşları özellikle üriner sistem enfeksiyonları ve diğer klinik sorunlara yol açabilmektedir (Kaper ve diğerleri, 2004). Bu patojenik suşlar arasında özellikle UPEC suşları, insanlarda üriner sistem enfeksiyonlarının en sık görülen etkenlerindendir (Foxman, 2010).

Bu çalışma, pazar yerleri ve yerel marketlerden temin edilen çiğ süt örneklerinde *E. coli* prevalansını değerlendirmeyi, izole edilen suşların antibiyotik direnç profillerini belirlemeyi ve özellikle UPEC virülans genlerinin varlığını araştırmayı amaçlamaktadır. Böylece, hem gıda güvenliği hem de toplum sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olan çiğ süt kaynaklı *E. coli* bulaşmasının boyutları ortaya konulacaktır. Ayrıca elde edilen bulgular, çiğ süt tüketimi ile ilişkili potansiyel sağlık risklerinin anlaşılmasına katkıda bulunarak önleyici stratejilerin geliştirilmesine temel oluşturacaktır (Manges ve diğerleri, 2001).

Literatürde, çiğ süttten izole edilen *E. coli* suşlarının prevalansı ve antibiyotik direnç profilleri üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Jay, 2000). Ancak, Üropatojenik *E. coli* virülans genlerinin araştırılması ve bunların moleküler düzeyde karakterizasyonu, ülkemizde ve dünya genelinde henüz yeterince incelenmemiştir (Johnson ve Russo, 2018).

2.1 Çiğ Sütte *E. coli* Prevalansı ve Mikrobiyolojik Kalite

Çiğ süt, yüksek besin içeriği ve mikrobiyal gelişim için uygun ortamı nedeniyle gıda kaynaklı patojenlerin bulaşması açısından önemli bir risk faktörüdür. Bu patojenlerden biri olan *E. coli*, fekal kökenli bir bakteri olup hem süt hayvanlarının sağlığı hem de tüketici güvenliği açısından önemli bir göstergedir. Literatürde farklı coğrafyalarda yürütülen çalışmalar, çiğ süt ve süt ürünlerinde *E. coli* prevalansının oldukça değişkenlik gösterdiğini,

ayrıca bu izolatların antibiyotik direnci ve virölans özellikleri açısından da dikkatle incelenmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Elbastawesey ve ark. (2025) tarafından yapılan çalışmada, Mısır'dan toplanan çiğ süt ve süt ürünlerinden izole edilen 138 *E. coli* suşunun % 68.1'i potansiyel olarak patojen kabul edilmiştir. Yapışma ile ilişkili *lpfAO113* (% 38.4) ve *ehaA* (%30.4) genleri en sık tespit edilen virölans faktörleri olurken, toksin üretiminden sorumlu *astA*, *cdt*, *cnf1* ve *hlyA* gibi genler daha düşük oranlarda bulunmuştur. İzolatların %80'i en az bir antibiyotiğe dirençli olup, en yüksek direnç oranları ampisilin (% 52.2), streptomisin (% 39.9) ve tetrasiklin (% 39.9) antibiyotiklerinde gözlenmiştir. Özellikle β -laktam antibiyotiklere karşı yüksek direnç oranları, bu izolatların halk sağlığı açısından önemini artırmaktadır (Elbastawesey ve diğerleri, 2025). Benzer şekilde Hasan ve ark. (2018), Bangladeş'te süt sağım alanlarından toplanan çiğ süt örneklerinde *E. coli* prevalansını % 44.6 olarak bildirmiştir. İzole edilen suşların antibiyotik duyarlılık profiline göre en yüksek direnç oranları ampisilin (% 95.1), eritromisin (% 92.6) ve tetrasiklin (% 90.2) antibiyotiklerine karşı tespit edilmiştir. Buna karşılık, gentamisin ve kloramfenikole karşı duyarlılığın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışmada virölans genlerine dair doğrudan moleküler analiz yapılmamış olsa da, yüksek direnç oranları bu izolatların potansiyel patojenik karakteri hakkında önemli ipuçları sunmaktadır. Bu durum, hijyenik olmayan süt sağım ve saklama koşullarının önemli bir risk faktörü olduğunu düşündürmektedir (Hasan ve diğerleri, 2018).

Liu ve ark. (2021) tarafından Çin'in kuzeyinde yürütülen bir çalışmada, çiğ süt örneklerinden elde edilen *E. coli* izolatlarının hem antibiyotik duyarlılık profilleri hem de moleküler özellikleri analiz edilmiştir. İzolatların antibiyotik duyarlılık testlerinde, özellikle ampisilin (% 46.3) ve tetrasiklin (% 13.4) gibi yaygın antibiyotiklere karşı direnç oranları gözlenmiştir. Moleküler karakterizasyonda yapışma (*fimH*, *papC*) ve toksin (*stx1*, *stx2*) genleri dahil olmak üzere çeşitli virölans faktörlerinin varlığı tespit edilmiştir. Çalışma, süt üretim zincirindeki hijyen uygulamalarının yetersizliğine işaret ederken, izolatların %75'inin çoklu ilaç direncine sahip olduğunu ortaya koymuştur (Liu ve diğerleri, 2021). Yine Imre ve ark. (2022), Romanya'da ticari olarak satılan çiğ süt peynirlerinde yürüttükleri analizlerde, izole edilen *E. coli* suşlarının prevalansını %22.4 olarak bildirmiştir. İzolatların %45.5'i patojen potansiyele sahip bulunmuş, bu suşlarda *fimH* (%39.4), *iss* (% 36.4) ve *papC* (% 15.2) gibi virölans genleri saptanmıştır. Ayrıca, bu izolatların %89.1'i en az bir antibiyotiğe karşı dirençli olup, en yaygın direnç ampisilin (% 81.8), tetrasiklin (% 51.5) ve sülfametoksazol-trimetoprim (% 45.5) antibiyotiklerine karşı gözlenmiştir. Çalışma, *E. coli*

suşlarının hem potansiyel patojen hem de dirençli suşlar olduğunu göstermiş, bu ürünlerin düzenli mikrobiyolojik kontrolünün gerekliliğine dikkat çekmiştir (Imre ve diğerleri, 2022).

Ribeiro ve ark. (2024) tarafından Brezilya'da yapılan bir çalışma, küçük ölçekli çiftliklerden elde edilen çiğ süt peynirlerinden izole edilen *E. coli* izolatlarını moleküler ve fenotipik düzeyde karakterize etmiştir. Çalışmada, enterik (EPEC, STEC) ve ekstra-intestinal (ExPEC) patotiplere ait çeşitli virülans genlerini taşıyan suşlara rastlanmıştır; bu durum suşların hem virülans hem de direnç genleri taşıdığını belirlemiş, özellikle üretim ortamının ve kullanılan ekipmanların hijyeninin halk sağlığı açısından doğrudan etkili olduğunu vurgulamıştır. Çalışmanın genişletilmiş analizinde, ESBL/AmpC üretici koleksiyonundaki izolatların amoksisilin, ampicilin, seftiofur ve sefotriksone karşı %100 dirençli olduğu; ancak seftriaksona duyarlı olmaları nedeniyle bu izolatların muhtemelen AmpC tipi β -laktamaz ürettikleri belirtilmiştir. Bu durum, hayvanlarda seftiofur kullanımının AmpC gelişimini teşvik edebileceğine işaret etmekte ve gözlemlenen sefoksitin direnci ile de örtüşmektedir (Ribeiro ve diğerleri, 2024).

Ombarak ve ark. (2016) ise Mısır'da çiğ süt ve peynir örneklerinden izole ettikleri 222 *E. coli* suşunun % 36.9'unun izole edildiği 69 örnekte, izole edilen 104 suştan % 46.8'inde bir veya daha fazla virülans geni tespit etmiştir. En yaygın virülans genleri *lpfAO113* (% 40.5) ve *ehaA* (% 32.4) olurken, *astA*, *iha*, *hlyA*, *stx1*, *stx2*, *eaeA*, *cdt-III* ve *cnf2* genleri daha düşük oranlarda saptanmıştır. Filogenetik gruplandırma, suşların çoğunluğunun bağırsak enfeksiyonlarıyla ilişkili A (% 67.6), B1 (% 30.2) ve D (% 2.3) gruplarında yer aldığını göstermiştir. Bu durum, Mısır'daki çiğ süt ve süt ürünlerinde bulunan *E. coli* suşlarının gastroenterit potansiyeline sahip olabileceğine işaret etmektedir. Çalışma, Karish ve Ras peynirleri de dahil olmak üzere süt ürünlerinin *E. coli* ile yüksek oranda kontamine olduğunu ve halk sağlığı için önemli bir risk oluşturduğunu ortaya koymuştur (Ombarak ve diğerleri, 2016). Virülans genlerinin dağılımı üzerine yoğunlaşan bir diğer çalışmada Younis ve ark. (2021), Mısır'dan toplanan 100 süt örneğinin %10'unda *E. coli* kontaminasyonu tespit etmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri, izolatların büyük çoğunluğunun özellikle β -laktamlar, klindamisin ve rifampin gibi üç veya daha fazla antibiyotik sınıfına karşı dirençli olduğunu ortaya koymuştur. Moleküler analizlerle tüm izolatların *blaTEM* ve *tetA(A)* direnç genlerini taşıdığı; dört izolatın *eae* virülans geni, diğer dört izolatın *tetB* genini ve yalnızca bir izolatın *stx2* genini pozitif olarak sergilediği belirlenmiştir. Bu bulgular, çiğ süt kaynaklı *E. coli* suşlarının hem çoklu antibiyotik direnci hem de virülans faktörleri açısından önemli bir halk sağlığı riski oluşturduğunu göstermektedir (Younis, Hassan ve Mohamed, 2021).

Aynı şekilde, Güney Afrika'da gerçekleştirilen bir çalışmada Caine ve ark. (2014), ticari çiftliklerden elde edilen süt örneklerinde diyareojenik *E. coli* (DEC) patotiplerine özgü virülans genlerinin saptandığını belirtmiştir. Çalışma, tüketicilere sunulan çiğ inek sütlerinin patojenik *E. coli* ile kontamine olduğunu göstermektedir. Toplam 400 çiğ süt örneği, *fliCH7*, *eagR*, *ial*, *eagg*, *lt* ve *papC* virülans genlerinin varlığı açısından incelenmiştir. Süt çiftliği A'dan 100, süt çiftliği B'den 88 *E. coli* izolatu kültür, oksidaz testi ve Gram boyama ile tanımlanmıştır. Çiftlik A'da en yaygın virülans geni % 54 oranıyla *fliCH7* olarak belirlenirken, en düşük oranda tespit edilen gen %4 ile *lt* olmuştur. Çiftlik B'de ise *fliCH7* geninin prevalansı % 43.2, *papC* geninin ise % 2.7 olarak tespit edilmiştir. Bu patojenik genlerin yüksek oranlarda bulunması, çiğ sütte yaygın olarak dağılan virülan *E. coli* suşlarının insan sağlığı açısından önemli bir risk oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Çalışma, sağımcinin elleri ve hayvan memelerinin düzenli temizliği, süt kapları ve ekipmanların sterilizasyonu gibi hijyen önlemlerinin sıkı şekilde uygulanmasının, ayrıca süt çiftliklerinde çalışanların eğitiminin bu riski azaltmada kritik rol oynayacağını vurgulamaktadır. Bu durum, süt kaynaklı potansiyel zoonotik bulaşma riskine dikkat çekmektedir (Caine ve diğerleri, 2014).

Vahedi ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, Sari şehrindeki süt çiftlikleri ve süpermarketlerden toplanan 200 süt örneği (100 pastörize, 100 çiğ süt) bakteriyolojik olarak incelenmiştir. Çiğ süt örneklerinde *E. coli*, koliformlar ve *Staphylococcus aureus* sırasıyla % 42, % 36 ve % 22 oranlarında tespit edilmiştir. Buna karşılık, pastörize süt örneklerinde bu oranlar sırasıyla % 9, % 2 ve % 2 olarak belirlenmiştir. Çalışmada hiçbir örnekte *Listeria monocytogenes* izole edilememiştir. *E. coli* varlığı, sütlerin atık su ve dışkı materyalleri ile kontaminasyonunun önemli bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Bu bulgular, çiğ sütlerin mikrobiyolojik açıdan halk sağlığı için potansiyel risk taşıdığını ve pastörizasyon uygulamasının yeterliliğinin sorgulanması gerektiğini gündeme getirmiştir (Vahedi, Nasrolahei, Sharif ve Mirabi, 2013). Türkiye'den Tuncay ve ark. (2022) ise Van ilinde satışa sunulan çiğ sütlerde mikrobiyolojik kalite ve antibiyotik kalıntısı düzeylerini analiz etmiş; çalışmada *Salmonella* spp. tespit edilmezken sadece 1 (%1.70) örnekte *Listeria monocytogenes* varlığı saptanmıştır. Antibiyotik kalıntısı analizlerinde ise örneklerin 8'inde β -laktam grubu (penisilinler ve sefalosporinler), 6'sında ise tetrasiklin grubu (tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin ve doksisisilin) antibiyotik kalıntısına rastlanmıştır. Bu sonuçlar, Van bölgesinde çiğ sütlerde belirli antibiyotik kalıntılarının bulunmasının yanı sıra, patojenik bakteri varlığının oldukça düşük olduğunu göstermektedir (Tuncay ve diğerleri,

2022). İnat ve ark. (2017) tarafından Türkiye’de yapılan bir başka çalışmada, çiğ sütlerde *E. coli* O157 ve O157:H7 varlığı araştırılmış ve örneklerin %8,2’sinde bu patojen suşların bulunduğu bildirilmiştir. Bu suşların *stx* ve *eae* gibi önemli virülans genlerine sahip oldukları belirlenmiştir (İnat, Sırken ve Pamuk, 2017). Benzer şekilde, Aydın ve ark. (2010), Kayseri yöresinde süt sığırlarından elde edilen örneklerde hem konvansiyonel hem de moleküler yöntemlerle *E. coli* O157:H7 tespiti gerçekleştirmiştir. Yüksek prevalans oranları, bölgesel bazda süt üretim ve işleme koşullarının gözden geçirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Aydın ve diğerleri, 2010).

Son olarak, Guneri ve Kızılyıldırım (2022) tarafından yapılan çalışmada, tüketime sunulan 60 adet çiğ süt örneğinin % 3.3’ünde ($n=2$) *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. İzolatların antibiyotik direnç profili incelendiğinde, her iki suşun da ampisilin ve kloramfenikole karşı dirençli olduğu; gentamisin ve siprofloksasine karşı ise sadece bir izolatın dirençli, diğerinin duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın, her iki izolatın tetrasiklin, nalidiksik asit ve sefuroksime karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, çiğ sütlerde *E. coli* O157:H7 varlığının düşük düzeyde olmakla birlikte antibiyotik direnç özellikleri açısından dikkat çekici olduğunu göstermektedir. Bu veriler, çiğ sütlerin mikrobiyolojik kalite açısından ciddi riskler taşıdığını ve zoonotik potansiyeli yüksek suşların varlığının da toplum sağlığı açısından tehdit oluşturduğunu göstermektedir (Guner ve Kızılyıldırım, 2022).

Bu literatür taraması ışığında değerlendirildiğinde, çiğ süt ve süt ürünlerinde *E. coli* varlığı hem mikrobiyolojik kalite hem de halk sağlığı açısından ciddi bir sorun olarak öne çıkmaktadır. Özellikle antibiyotik dirençli ve virülans faktörleri taşıyan suşların yaygınlığı, gıda güvenliği politikalarının yeniden gözden geçirilmesini ve sıkı mikrobiyolojik denetimleri gerekli kılmaktadır.

2.2 Antibiyotik Direnci ve Antibiyogram Çalışmaları

Çiğ süt ve süt ürünleri, hijyenik koşullarda üretilmediğinde halk sağlığı açısından önemli riskler taşıyabilmektedir. Bu ürünlerde bulunan *E. coli* suşlarının antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi halk sağlığı açısından endişe verici bir durumdur. Literatürde, çiğ süt ve türevlerinde izole edilen *E. coli* suşlarının çoklu antibiyotik direnci gösterdiği, çeşitli antibiyotik sınıflarına karşı direnç oranlarının yüksek olduğu ve bu bakterilerin virülans faktörleriyle birlikte toplum sağlığı açısından potansiyel risk taşıdığı ortaya konmuştur.

Elbastawes ve ark. (2025) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Mısır’da çiğ süt ve süt ürünlerinden izole edilen *E. coli* suşunun antimikrobiyal direnç profilleri ve potansiyel

patojeniteleri değerlendirildi. Toplam 84 izolatın % 27.4'ünün en az bir antibiyotiğe direnç gösterirken %11.9'unun çoklu ilaç direnci (MDR) taşıdığı belirlendi. Suşların önemli bir kısmının *blaTEM*, *blaSHV* ve *blaCTX-M* gibi β -laktamaz direnç genlerini taşıdığı tespit edildi. Antibiyotik duyarlılık testlerinde *E. coli* izolatlarının büyük kısmının ampisilin, tetrasiklin ve streptomisin gibi yaygın antibiyotiklere karşı yüksek oranda dirençli olduğu görüldü (Elbastawes ve diğerleri, 2025).

Hasan ve ark. (2018) ise Bangladeş'teki çiğ süt örneklerinden elde ettikleri *E. coli* izolatlarının en çok tetrasiklin (% 85) ve ampisilin (% 75) gibi yaygın kullanılan antibiyotiklere dirençli olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, düzensiz ve kontrolsüz antibiyotik kullanımının direnç gelişimine olan katkısını vurgulamaktadır (Hasan ve diğerleri, 2018).

Liu ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada, Kuzey Çin'deki süt sığırcılığı işletmelerinden elde edilen 195 çiğ süt örneğinden izole edilen *E. coli* suşlarının % 46.3'ü ampisiline, % 16.4'ü amoksisilin-klavulanik aside ve % 13.4'ü tetrasikline dirençli bulunmuştur. Tüm izolatlar gentamisine duyarlı bulunmuştur. Ayrıca, izolatların % 34.3'ü β -laktamaz genleri taşımakta olup, bu oran β -laktam dirençli suşlarda %45'e yükselmiştir. Belirlenen direnç genlerinin dağılımı *bla_TEM* (% 20.9), *bla_CMY* (%10,4), *bla_SHV* (% 1.5) ve *bla_CTX-M* (% 1.5) şeklindedir. Bazı non-patojenik *E. coli* izolatlarında dahi bu direnç genlerinin varlığı, yatay gen transferi ile bulaş potansiyeline işaret etmektedir. Bulgular, mastitisli hayvanlarda *E. coli*'nin çoklu antibiyotik direnci taşıdığına ve özellikle ampisilin kullanımına karşı dikkatli olunması gerektiğine vurgu yapmaktadır (Liu ve diğerleri, 2021).

Romanya'da yapılan bir başka çalışmada (Imre ve ark., 2022), geleneksel yöntemlerle üretilen çiğ süt peynirlerinden izole edilen *E. coli* suşlarının % 39.5'i ampisiline, % 28.6'sı norfloksasine, % 25'i fosfomisine, % 23.3'ü amoksisilin/klavulanik aside ve %13.3'ü tetrasikline direnç göstermiştir. Test edilen izolatların % 23.3'ü çoklu ilaca dirençli (MDR) olarak tanımlanmıştır. Ayrıca *stx1* ve *stx2* virülans genleri ile *E. coli* O157 varyantlarının varlığı tespit edilmiştir. Bu bulgular, geleneksel çiğ süt peynirlerinin hem antimikrobiyal dirençlilik hem de patojenite açısından halk sağlığı riski taşıyabileceğini göstermektedir (Imre ve diğerleri, 2022).

Ribeiro ve ark. (2024) tarafından Brezilya'da küçük ölçekli çiftliklerden elde edilen örneklerde *E. coli* izolatlarının % 69.8'i en az bir antibiyotiğe dirençli bulunmuş; özellikle

nalidiksik asit, ampisilin, tetrasiklin ve trimetoprim/sülfametoksazol gibi halk sağığı açısından kritik antibiyotiklere karşı direnç ön plana çıkmıştır. AmpC tipi direnç dikkat çekerken, ESBL varlığına rastlanmamıştır. Direnç profilleri, mastitis tedavisinde uygunsuz antibiyotik kullanımına ve hayvancılıkta florokinolon gibi ilaçlara bağı gelişimi işaret etmektedir. Bu durum, gıda kaynaklı dirençli bakterilerin insan mikrobiyotasına geçişi açısından ciddi bir halk sağığı riski oluşturmaktadır (Ribeiro ve diğeri, 2024).

Benzer şekilde, Younis ve ark. (2021), Mısır'da incelenen süt örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının hem virölans genleri (örneğin: *stx1*, *eae*) taşıdığını hem de sefalosporinler, aminoglikozitler ve kinolonlara karşı yüksek direnç gösterdiğini belirtmişlerdir (Younis ve diğeri, 2021).

Meksika'da yapılan bir çalışma, taze peynirlerde Shiga toksin üreten, enterotoksijenik ve enteropatojenik *E. coli* suşlarının varlığını ortaya koymuş; bu izolatların büyük çoğunluğunun çoklu antibiyotik dirençli olduğunu bildirmiştir. Özellikle tetrasiklin, ampisilin ve trimetoprim-sülfametoksazol'a karşı direnç oranları yüksektir (De La Rosa-Hernández ve diğeri, 2018).

Ranjbar ve ark. (2018) tarafından İran'da yapılan çalışmada, 600 süt ve süt ürünü örneğinin %10.66'sında STEC izolatları tespit edilmiş; en yaygın serogrup O157 (% 43.75) olmuştur. İzolatların tamamı ampisilin ve gentamisine, % 96.87'si tetrasikline dirençli bulunmuştur. *Aac(3)-IV*, *CITM* ve *tetA* genlerinin yaygınlığı dikkat çekmiştir. Dirençli ve çoklu virölans faktörü taşıyan O157 suşlarının varlığı, çiğ süt ürünlerinin tüketimiyle bulaşabilecek ciddi bir halk sağığı tehdidini ortaya koymaktadır (Ranjbar ve diğeri, 2018).

İran'ın Kaşan kentinde 150 UPEC izolatının % 74'ü çoklu ilaca dirençli bulunmuş, en yüksek direnç ampisiline (%81.3), nalidiksik asite (% 71.3) ve kotrimoksazole (% 64.7) karşı gözlenmiştir. İzolatların % 84'ünde virölans genleri tespit edilmiş olup *traT* (% 74) ve *PAI* (% 61.3) belirteçleri en yaygın olanlarıdır. Bu sonuçlar, hem tedaviye dirençli hem de virölans potansiyeli yüksek UPEC suşlarının varlığına işaret ederek, İYE tedavisinde antibiyotik seçiminde dikkatli olunması gerektiğini ortaya koymaktadır (Neamati ve diğeri, 2015).

Raeispour ve Ranjbar tarafından yapılan çalışmada (2018), Tahran'daki hastanelerden izole edilen 60 UPEC suşunun tamamı sefepime ve imipeneme dirençli bulunmuş; *fimH* (% 89), *hlyA* (% 60) ve *aer* (% 90) virölans genleri en yaygın şekilde tespit edilmiştir. PFGE ile yapılan genotipleme, suşların 33 farklı genetik kümeye ayrıldığını ve klonal çeşitliliğin

oldukça yüksek olduğunu göstermiştir. Çalışma, artan antibiyotik direnci ile birlikte virülans potansiyeli yüksek ve genetik olarak çeşitli UPEC suşlarının varlığını ortaya koyarak, enfeksiyon kontrolü ve tedavi stratejileri açısından önemli halk sağlığı risklerine işaret etmektedir (Raeispour ve Ranjbar, 2018).

Güneri ve Kızılyıldırım (2022) tarafından, Mersin'deki çeşitli pazar ve bakkallardan temin edilen 60 çiğ süt örneğinin % 3.3'ünde *E. coli* O157:H7 izole edilmiştir. İzolatların her ikisi de ampicilin ve kloramfenikole dirençli bulunurken, sadece biri gentamisin ve siprofloksasine karşı direnç göstermiştir; her iki izolat da tetrasiklin, nalidiksik asit ve sefuroksime duyarlı bulunmuştur. Bu sonuçlar, çiğ sütlerin *E. coli* O157:H7 için potansiyel taşıyıcı olduğunu ve özellikle dirençli suşların varlığıyla birlikte halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturduğunu göstermektedir (Güneri ve Kızılyıldırım, 2022).

Van ilinde satışa sunulan çiğ sütlerde mikrobiyolojik kalite ve antibiyotik varlığı üzerine yapılan çalışmada, % 80 oranında *E. coli* tespit edilmiş ve bu izolatların en çok tetrasiklin ve amoksisilin-klavulanik asit gibi antibiyotiklere dirençli olduğu belirlenmiştir (Tuncay ve diğerleri, 2022).

Bu bulgular ışığında, çiğ süt ve süt ürünleri kaynaklı *E. coli* suşlarının taşıdığı direnç ve virülans potansiyeli, yalnızca veteriner hekimliği ve gıda güvenliği açısından değil, aynı zamanda halk sağlığı açısından da ciddi tehdit oluşturmaktadır. Bu nedenle, hijyenik süt üretimi kadar, antibiyotik kullanımına dair izleme ve kontrol mekanizmalarının da güçlendirilmesi gerekmektedir.

2.3 Moleküler Karakterizasyon, Virülans Genleri ve Genotipleme

E. coli suşlarının moleküler karakterizasyonu, patojenite potansiyellerinin belirlenmesi ve özellikle UPEC gibi spesifik patotiplere ait virülans genlerinin tespiti, halk sağlığı açısından kritik bir öneme sahiptir. Bu kapsamda yapılan çalışmalar, *E. coli* izolatlarının sadece fenotipik olarak değil, aynı zamanda genetik düzeyde de değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Liu ve arkadaşları (2021), Çin'in kuzey bölgelerindeki süt çiftliklerinden izole ettikleri *E. coli* suşlarında geniş bir moleküler karakterizasyon çalışması yapmış; 195 çiğ süt örneğinde % 34.4 oranında *E. coli* izolasyonu yapılmış; bu izolatların % 9'u STEC, % 6'sı ETEC, % 4.5'i EPEC ve % 1.5'i EIEC olarak tanımlanmıştır. Virülans genleri arasında *stx1* (% 9), *eae* (% 4.5) ve *estB* (% 3) saptanmış, ayrıca izolatların % 34.3'ünde β -laktamaz direnç genleri

(en yaygın *blaTEM*, % 20.9) bulunmuştur (Liu ve diğerleri, 2021). Benzer şekilde, Younis ve arkadaşları (2021) tarafından Mısır'ın Qena bölgesinde yürütülen çalışmada, çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* suşları moleküler olarak karakterize edilmiş; virülans faktörleri değerlendirilmiştir. Toplam 100 çiğ süt örneğinin % 10'unda *E. coli* varlığı saptanmış; bu izolatlar arasında O114, O27, O111 ve O125 gibi serotiplere ait suşların yanı sıra tiplendirilemeyen izolatlar da belirlenmiştir. Bu izolatlardan biri moleküler düzeyde *Enterobacter hormaechei* olarak yeniden tanımlanmıştır. PZR analizleri sonucunda tüm *E. coli* suşlarında *blaTEM* ve *tetA(A)* genleri tespit edilmiş; dört izolat *eae*, dört izolat *tetB* ve yalnızca bir izolat *stx2* virülans genine sahip bulunmuştur (Younis ve diğerleri, 2021).

Neamati ve arkadaşları (2015) ise İran'ın Kaşan kentinde İYE nedeniyle hastaneye başvuran hastalardan izole edilen 150 UPEC suşunda virülans genlerini araştırmıştır. Araştırmacılar UPEC suşlarında *papC*, *sfa*, *afa*, *cnf1* ve *hlyA* gibi klasik UPEC virülans genlerinin dağılımını analiz etmiş ve bu genlerin farklı kombinasyonlarının klinik seyri etkileyebileceğini ortaya koymuştur. PZR yöntemiyle yapılan analizlerde, izolatların % 74'ünde *traT* geni, % 61.3'ünde patojenite adası (PAI) belirteçleri ve % 16.6'sında *pap* geninin varlığı tespit edilmiştir. Bu bulgular, UPEC suşlarında virülansla ilişkili genlerin yaygın olduğunu ve bu genlerin hastalık patogeneğinde önemli rol oynadığını göstermektedir (Neamati ve diğerleri, 2015).

UPEC suşlarının genotipik analizleri üzerine Jalali ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, Karaj Shahid Rajai Hastanesi'nden toplanan 100 *E. coli* izolatında yapılan PZR analizleriyle, virülans genlerinin varlığı araştırılmıştır. En yaygın virülans faktörü fimbria tip 1'i kodlayan *fimH* geni olup %73 oranında bulunmuştur. Diğer virülans genlerinin prevalansı ise sırasıyla; *pap* (% 46), *sfa* (% 32), *hly* (%4 7) ve *aer* (% 57) olarak tespit edilmiştir. Bu genlerin taşıdığı enfeksiyon potansiyelinin, hastane kaynaklı enfeksiyonların şiddetiyle doğrudan ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Jalali, Pourbakhsh, Fallah ve Eslami, 2015). Raeispour ve Ranjbar (2018) ise izole edilen 60 UPEC suşunda *fimH* (% 89), *hlyA* (% 60) ve *aer* (% 90) virülans genlerinin yaygın olarak bulunduğunu bildirmiştir. PFGE analizi, izolatları 33 farklı genetik kümeye ayırmış olup, bu klonal çeşitlilik UPEC suşlarının farklı kaynaklardan geldiğini göstermektedir. Sonuçlar, UPEC suşlarının belirli virülans faktörlerine sahip olduğunu ve genetik olarak heterojen bir yapıya sahip olduklarını ortaya koymuştur (Raeispour ve Ranjbar, 2018).

Öte yandan, diyarejenik *E. coli* suşlarının çiğ süt ve süt ürünlerinden elde edilmesi de ayrı bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Caine ve arkadaşları (2014), Güney

Afrika'daki iki süt çiftliğinden alınan 400 çiğ süt örneğinde yaptıkları moleküler analizde *eaeA*, *stx*, *aggR* gibi genlerin yüksek prevalansını bildirmiştir. Ayrıca, *fliCH7*, *eagR*, *ial*, *eagg*, *lt* ve *papC* gibi virülans genleri de araştırılmıştır. Çiftlik A'da *fliCH7* geni % 54, çiftlik B'de ise % 43.2 oranında bulunurken, diğer genler daha düşük oranlarda tespit edilmiştir. Bu bulgular, hayvansal ürünlerin zoonotik *E. coli* suşları açısından bir kaynak oluşturabileceğini göstermektedir (Caine ve diğerleri, 2014).

Libya'da yapılan bir çalışmada ise Garbaj ve arkadaşları (2016), süt ve süt ürünlerini kültürel ve moleküler yöntemlerle analiz etmişlerdir. Kültürel yöntemlere göre 27 izolat EHEC O157 olarak belirlenmiş, ancak sadece 11 izolatta 16S rDNA kısmi dizilemesi ve Lateks aglütinasyon testi ile doğrulama sağlanmıştır. Filogenetik analizler, bu izolatların çoğunun *E. coli* O157:H7 FRIK944 suşu ile yakın ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, EHEC O157'nin Libya'da gıda kaynaklı önemli bir patojen olarak değerlendirilmesi ve insan enfeksiyonlarındaki rolünün araştırılması açısından önem taşımaktadır (Garbaj ve diğerleri, 2016). Meksika'dan bildirilen bir çalışmada De La Rosa-Hernández ve arkadaşları (2018), yerel pazarlardan temin edilen taze peynir örneklerinde diyarejenik *E. coli* patotiplerini ve antibiyotik dirençlerini incelemiştir. Multipleks PZR ile STEC (% 8), EPEC (% 6) ve ETEC (% 5) patotipleri tanımlanmıştır. İzole edilen tüm suşlar en az beş antibiyotiğe dirençli bulunmuş; bazı STEC izolatlarının 14 farklı antibiyotiğe direnç gösterdiği bildirilmiştir. Bu bulgular, pastörize edilmemiş süttten üretilen taze peynirlerin çoklu ilaca dirençli *E. coli* suşları açısından halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturduğunu göstermektedir (De La Rosa-Hernández ve diğerleri, 2018).

Khairy ve arkadaşları (2019) tarafından, toplum kaynaklı enfeksiyonlardan izole ettikleri 173 UPEC ve DEC suşunun PZR ile analiz edildiği bir çalışmada, her iki grubun da en yaygın filogenetik grubunun A olduğu, ardından B2 grubunun geldiği bulunmuştur. UPEC'in % 89.3'ü ve DEC'in % 94.3'ü en az bir ürovirülans geni taşıırken, en yaygın gen *fimH* olmuştur. UPEC'te 20, DEC'te ise 5 farklı virülans gen paterni belirlenmiştir. Bulgular, bazı DEC suşlarının potansiyel üropatojen olabileceğini ve *E. coli*'nin mevcut sınıflandırmasının yeniden gözden geçirilmesi gerektiğini göstermektedir (Khairy, Mohamed, Ghany ve Abdelrahim, 2019). Son olarak, Ranjbar ve arkadaşları (2018), süt ve süt ürünlerinden izole edilen STEC suşlarının moleküler özelliklerini inceledikleri bir çalışmada, 600 örnekten % 10.66 oranında STEC izole etmiştir. Tespit edilen suşlar arasında en yaygın serogruplar O157 (% 43.75) ve O26 (% 37.50) olarak belirlenmiştir. Çalışma, çiğ süt ve ürünlerinde yaygın olarak bulunan bu serotiplerin, birden fazla virülans faktörünü aynı anda

taşıyabildiğini ortaya koyarak, süt kaynaklı STEC suşlarının hem serotiplerini hem de virülans ve direnç genlerini değerlendirerek, süt kaynaklı bulaş riskine dikkat çekmiştir (Ranjbar ve diğerleri, 2018).

Bu literatür taraması genel olarak, *E. coli* suşlarının moleküler düzeyde incelenmesinin, hem epidemiyolojik değerlendirmelerde hem de halk sağlığı stratejilerinin geliştirilmesinde vazgeçilmez bir araç olduğunu göstermektedir. Virülans genleri ile direnç genlerinin birlikte bulunması, sadece tedavi planlamasını zorlaştırmakla kalmayıp aynı zamanda zoonotik bulaş yollarının da dikkatle izlenmesini gerektirmektedir.

2.4 UPEC Özel Çalışmaları ve Klinik Karşılaştırmalar

UPEC, İYE en yaygın etkenidir ve bu suşlar, kendilerine özgü virülans genleri sayesinde mesane ve böbrek dokularına tutunarak ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. UPEC suşlarının moleküler yapısının ve virülans özelliklerinin anlaşılması, hem tanı hem de tedavi açısından büyük önem arz etmektedir.

Jalali ve ark. (2015) tarafından İran'da yapılan çalışmada, UPEC suşlarında virülans genlerinin genotiplendirilmesi hedeflenmiştir. PZR ile yapılan analizler sonucunda en yaygın virülans geni % 73 ile *fimH* olarak belirlenmiştir. Bu geni sırasıyla % 57 ile *aer*, % 47 ile *hly*, % 46 ile *pap* ve % 32 ile *sfa* genleri takip etmiştir. Genotipleme sonuçları, klinik tablolarla korelasyon açısından değerli bilgiler sunmuş ve UPEC suşlarının enfeksiyon tipine göre farklı virülans profilleri sergileyebileceği vurgulanmıştır (Jalali ve diğerleri, 2015).

Yeganeh ve ark. (2017) ise UPEC suşları üzerinde biyofilm oluşumunu ve probiyotik etkileşimini inceleyen özgün bir çalışmaya imza atmıştır. Çalışmada, pastörize süt ortamında izole edilen siprofloksasin dirençli UPEC suşlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri incelenmiş ve bu biyofilmler üzerine *Lactobacillus plantarum*, *L. casei* ve *L. acidophilus* suşlarının anti-adeziv etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, tüm UPEC izolatları biyofilm oluşturabilmiş ve özellikle *L. plantarum* suşu, 42 mm'lik inhibisyon zonu ile en güçlü antibiyofilm etkisini göstermiştir. Bu bulgular, probiyotiklerin UPEC'in adezyon ve biyofilm oluşturma yeteneğini baskılayarak tedavide alternatif bir biyolojik yöntem olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır (Yeganeh ve diğerleri, 2017).

Sonuç olarak, UPEC suşlarının sahip olduğu genetik çeşitlilik, yüksek antibiyotik direnci ve virülans potansiyeli, bu patojenin halk sağlığı açısından potansiyel bir tehdit olabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, klinik örneklerden elde edilen veriler, moleküler düzeyde

karakterizasyonun enfeksiyon kontrolü ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde vazgeçilmez bir rol oynadığını göstermektedir.

2.5 Epidemiyoloji, Halk Sağlığı ve Gıda Güvenliği Perspektifi

E. coli'nin özellikle süt ve süt ürünlerinden insanlara bulaşma riski, hem epidemiyolojik hem de halk sağlığı açısından önemli sonuçlar doğurmaktadır. Bu bölümde, çeşitli çalışmalardan elde edilen bulgular doğrultusunda çiğ süt ve süt ürünlerinde *E. coli* kontaminasyonu, antibiyotik direnci ve virülans faktörleri çerçevesinde değerlendirilmiştir.

Ribeiro ve arkadaşları (2024), Brezilya'daki küçük ölçekli süt çiftliklerinde yürüttükleri bir çalışmada, çiğ süt ve taze peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarını, çeşitli patotipleri (EAEC, EIEC, ETEC, EPEC, STEC ve ExPEC) hedef alarak moleküler ve fenotipik düzeyde karakterize etmiştir. İzolatlarda virülans genleri, filogenetik gruplar, serotipler ve antimikrobiyal direnç profilleri belirlenmiş; PFGE ve MLST teknikleriyle genetik ilişkiler değerlendirilmiştir. Patojenik EPEC, STEC ve ExPEC suşlarının hem süt hem de peynir örneklerinde tespit edilmesi dikkat çekicidir. Ayrıca, ST131 gibi klinik açıdan önemli sekans tiplerine rastlanmıştır; nalidiksik asit, ampisilin, streptomisin ve tetrasiklin gibi antibiyotiklere karşı yaygın direnç gözlenmiştir. Bu veriler, *E. coli*'nin üretim zincirinin farklı aşamalarında yayılım gösterebildiğini ve ciddi halk sağlığı riski taşıyabileceğini ortaya koymaktadır. Çalışma, hijyenik önlemlerin zorunluluğunu ve çiğ süt ürünlerine yönelik etkin denetim politikalarının gerekliliğini vurgulamaktadır (Ribeiro ve diğerleri, 2024)

Benzer şekilde Khairy ve arkadaşları (2019), farklı *E. coli* patotiplerinin virülans gen desenlerini karşılaştıran çalışmalarında, mevcut sınıflandırmaların yetersiz kalabileceğine işaret etmektedir. Toplam 173 UPEC ve DEC suşu filogenetik grupları ve ürovirülans genleri açısından değerlendirilmiş; grup A'nın her iki patotipte de baskın olması dikkat çekmiştir. *fimH* geni, UPEC (% 66.9) ve DEC (% 91.4) suşlarında en yaygın bulunan gen olurken, dört-beş virülans geni taşıyan örneklerin filogenetik grup B2'ye ait olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, bazı diyarejenik *E. coli* suşlarının potansiyel üropatojenik karakter taşıyabileceğini ortaya koymakta; patotipler arası sınırların yeniden değerlendirilmesi ve filogenetik temelli risk analizlerinin önemini vurgulamaktadır. Elde edilen bulgular, özellikle grup A suşlarının da halk sağlığı açısından dikkate alınması gerektiğini göstermektedir (Khairy ve diğerleri, 2019).

Ranjbar ve arkadaşları (2018), İran'da çiğ süt ve geleneksel süt ürünleri izolatlarında antibiyotik dirençli ve yüksek virülans özellikli STEC suşlarının yaygınlığını ortaya

koymuştur. Özellikle O157 ve O26 serogruplarının yüksek oranda bulunması, bu ürünlerin tkretiminde ciddi halk sağlığı risklerinin olabileceğine işaret etmektedir. Çoklu antibiyotik direncine sahip suşların varlığı, tedavi seçeneklerini sınırlamakta ve gıda kaynaklı enfeksiyonların kontrolünü zorlaştırmaktadır. Bu durum, hijyen standartlarının yükseltilmesi ve süt ürünlerinin güvenliğinin artırılması gerekliliğini vurgulamaktadır (Ranjbar ve diğerleri, 2018).

Türkiye’den Birdal ve Ak (2018), Türkiye Marmara Bölgesi’ndeki süt sığırı çiftliklerinde ve çevresinde *E. coli* O157:H7 varlığını ve mevsimsel yaygınlığını araştırmıştır. Toplam 576 rnek incelenmiş ve % 0.35 oranında *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir. İzolatların çoğu ilkbahar döneminde bulunmuş olup, mevsimsel farklılığın dışkı örneklerinde anlamlı olduğu ($p<0,01$) belirlenmiştir. *E. coli* O157:H7’nin varlığı, süt sığırı çiftliklerinde ve çevresinde zoonotik risk oluşturma potansiyeliyle gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından bir uyarı niteliğindedir. Bu durum, çiftlik hijyeninin ve çevresel kontrol önlemlerinin artırılması gerekliliğini göstermektedir (Birdal1 ve Ak2, 2018).

Van ilinde yürütülen bir çalışmada Tuncay ve arkadaşları (2022), bakkal, market ve süpermarketlerde satışa sunulan çiğ süt örneklerinde mikrobiyolojik kalite ve antibiyotik kalıntısı varlığını incelemiştir. Çiğ sütlerin önemli bir kısmında yüksek mikrobiyal yük ve β -laktam ile tetrasiklin grubu antibiyotik kalıntıları tespit edilmiştir. *Salmonella* spp. bulunmazken, nadiren *Listeria monocytogenes* varlığı saptanmıştır. Mikrobiyolojik kalite ve antibiyotik kalıntılarının halk sağlığı açısından risk oluşturduğu; bu nedenle süt üretiminde ve piyasaya arzda denetimlerin sıkılaştırılması, numune alma sıklığının artırılması ve antibiyotik kullanımının etkin takibinin gerekliliği vurgulanmıştır. Bu nlemler, gıda güvenliğinin artırılması ve kamu sağlığının korunması için kritik öneme sahiptir (Tuncay ve diğerleri, 2022).

Aydın ve arkadaşları (2010) tarafından, Kayseri ili ve ilçelerindeki süt işletmelerinde yapılan çalışmada, sağlıklı süt sığırlarının dışkı ve süt örneklerinde *E. coli* O157:NM suşları düşük oranda (% 2-4) tespit edilmiştir; ancak klasik *E. coli* O157:H7 suşu bulunmamıştır. İzole edilen bazı suşlarda sınırlı virlans genleri saptanmış olsa da genel kontaminasyon oranı düşüktür. Bu sonuçlar, bölgedeki süt ve süt ürünlerinde potansiyel mikrobiyal risklerin varlığına işaret etmekle birlikte, hijyen uygulamalarının sürdürülmesinin ve geliştirilmesinin halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından önemini ortaya koymaktadır. Kontrollü retim ve düzenli izleme programları, tüketicisi sağlığının korunması için gereklidir (Aydın ve diğerleri, 2010).

Benzer şekilde Güneri ve Kızılyıldırım (2022) tarafından Süleyman Demirel Üniversitesinde yürütülen çalışmada, çiğ süt örneklerinde % 3.3 oranında *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir. İzolatlar ampisilin ve kloramfenikole karşı direnç gösterirken, diğer bazı antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Bu durum, çiğ süt ve ürünlerinin *E. coli* O157:H7 aracılığıyla potansiyel bir halk sağlığı riski taşıdığını göstermektedir (Güneri ve Kızılyıldırım, 2022).

Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, *E. coli*'nin çiğ süt ve süt ürünlerinde önemli bir zoonotik tehdit oluşturabileceğini net bir biçimde ortaya koymaktadır. Virülans faktörlerinin varlığı ve yüksek antibiyotik dirençlilik oranları, bu bakterilerin yalnızca gastrointestinal değil, sistemik enfeksiyonlara da neden olabileceğini göstermektedir. Türkiye'den ve dünyadan elde edilen veriler, çiğ süt üretim ve dağıtım zincirlerinde etkin bir izleme, hijyen denetimi ve halk sağlığı bilgilendirmesinin zorunlu olduğunu göstermektedir.

2.6 Probiyotik ve Biyofilm Çalışmaları

Probiyotik mikroorganizmaların özellikle antibiyotik dirençli patojenler üzerindeki etkileri, son yıllarda halk sağlığı açısından büyük ilgi görmektedir. Bu bağlamda Yeganeh ve ark. (2017), pastörize süt ortamında siprofloksasin dirençli üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC) suşlarına karşı *Lactobacillus plantarum*, *L. casei* ve *L. acidophilus* gibi probiyotik türlerin antibiyofilm etkilerini incelemiştir. İdrar yolu enfeksiyonu geçiren hastalardan izole edilen sekiz UPEC suşunun tamamı biyofilm oluşturan ve çoklu antibiyotik dirençli karakterde bulunmuştur. Çalışmada, *L. plantarum* 42 mm'lik inhibisyon zonuyla en yüksek antibiyofilm etkiyi gösterirken, 4 numaralı izolat bu etkiye en duyarlı suş olmuştur. Laktobasillerin biyofilm oluşumunu anlamlı şekilde azalttığı ve bu etkinin yüzeye yapışmayı önleme, koagregasyon ve antimikrobiyal metabolit üretimi yoluyla gerçekleştiği belirlenmiştir. Bulgular, probiyotiklerin süt ürünlerinde patojenik UPEC suşlarına karşı potansiyel bir biyolojik kontrol ajanı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Yeganeh ve diğerleri, 2017).

Flemming ve Wingender (2010) tarafından biyofilm matrisinin kapsamlı analizi yapılmış ve biyofilm yapısının, mikroorganizmaların çevresel streslere karşı korunmasında temel rol oynadığı vurgulanmıştır. *E. coli* gibi patojenlerin oluşturduğu biyofilm, özellikle polimerik madde (EPS) içeriği sayesinde antibiyotiklere karşı direnç sağlar ve enfeksiyonların kronikleşmesine yol açar. UPEC suşlarının biyofilm formasyonu, idrar yolu enfeksiyonlarının tekrarlayan ve zor tedavi edilen bir hal almasının temel mekanizmalarından biridir. EPS, polisakkaritler, proteinler, nükleik asitler ve lipitlerden

oluşan üç boyutlu kohezif bir ağ yapısı ile bakterilerin yüzeye tutunmasını, hücreler arası etkileşimi ve metabolik işlevlerin sürdürülmesini sağlar. Bu yapı, biyofilm organizmalarını antibiyotikler, biyositler, UV radyasyonu ve bağışıklık savunmaları gibi çevresel tehditlere karşı korurken; aynı zamanda hücre dışı enzimlerin tutulmasını ve böylece dış sindirim sisteminin oluşmasını mümkün kılar. Bu nedenle, biyofilm matrisinin moleküler yapısının anlaşılması, yeni antibiyotik tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde önemli bir basamak olarak görülmektedir (Flemming ve Wingender, 2010).

Bu bulgular, hem gıda kaynaklı patojenlerle mücadelede hem de özellikle idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* suşlarının kontrolünde probiyotiklerin alternatif bir strateji olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Ayrıca çalışma, süt gibi gıda matrislerinde probiyotiklerin uygulanabilirliği açısından da önemli bir örnek teşkil etmektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Araç ve gereçler

Bu çalışmada kullanılan araç ve gereçler, üretici firmalar Çizelge 3.1'de listelenmiştir.

Çizelge 3.1: Çalışma kapsamında kullanılan araç ve gereçler, üretici firmaları.

Araç ve gereçler	Üretici firma
Otoklav	Nüve steamArt
Derin dondurucu	BOSCH
Ependorf santrifüj	Nüve
Jel elektroforez ünitesi	Hoefer
PZR sistemi	ESCO
Buzdolabı	BOSCH
Hassas terazi	KERN PFB
Vorteks karıştırıcı	ISOLAB
Kuru ısı bloğu	DLAB
Isıtmalı manyetik karıştırıcı	IKA RH
Koloni sayacı	ISOLAB
Mikrospin	DLAB
İnkübatör (Statik)	Heraeus
İnkübatör (Çalkalamalı)	Gerhardt
Cam beher (50, 100 ve 500 mL)	abware
Cam silindir (100, 500 ve 1000 mL)	ISOLAB
Erlenmayer (100, 250, 500 ve 1000 mL)	ISOTHERM
Petri kabı (9 cm)	Laboratory medikal plast
Mikropipet (1-1000 µL)	SOCOREX
Elektronik Dijital Kumpas	GFB

3.1.2 Kimyasal malzemeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler ve üretici firmaları Çizelge 3.2’de listelenmiştir.

Çizelge 3.2: Çalışma kapsamında kullanılan kimyasal malzemeler ve üretici firmaları.

Malzemeler	Üretici firma
Agaroz	MERCK
Etidyum bromür	MERCK
Etanol (% 70 ve 90, v/v)	SIGMA-ALORICH
Nükleaz içermeyen distile su	Invitrogen
Gliserol	Sigma-aldrich
NaCl	SIGMA-ALORICH
Gram Boyama	Liofilchem
Kovac reaktifi	Norateks
Oksijenli su	SIHHAT
H ₂ O ₂	AQUA
Metil kırmızısı	Norateks

3.1.3 Besiyerleri

Bu çalışma kapsamında kullanılan besiyerleri ve üretici firmaları Çizelge 3.3’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.3: Çalışma kapsamında kullanılan besiyerleri ve üretici firmaları.

Besiyeri	Üretici firma
Nutrient agar	HIMEDIA
Beyin kalp infüzyon agar	Neogen
Beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri	HIMEDIA
Eozin metilen mavisi	Condalab
MacConkey agar	Condalab
MR-VP sıvı besiyeri	Millipore
Müller hinton sıvı besiyeri	Condalab
Müller hinton agar	MERCK
Peptonlu su	MERCK
Simmons sitrat agar	Condalab
Üçlü şekerli demir agar	Condalab

3.1.4 Antibiyotik diskleri

Bu çalışmada kullanılan on dokuz tip antibiyotik diski ve üretici firmalarla ilgili bilgiler Çizelge 3.4’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.4: Çalışma kapsamında kullanılan antibiyotikler, özellikleri ve üretici firmaları

Antibiyotik Sınıfı	Alt Sınıf	Antibiyotik adı	Sembolü	Antibiyotik miktarı (µg)	Üretici firma
Penisilinler	Aminopenisilin	AMPİCİLLİN	AMP/AM*	10	Bioanalys
β-laktam/ β- laktamaz inhibitör kombinasyonları		PİPERACİLLİN/ TAZOBACTAM	PPT /TPZ	100/10	Bioanalys
		AMPİCİLLİN/ SULBACTAM	ASB/SAM	10/10	Bioanalys
		AMOXİCİLLİN/ CLAVULANİC ACİD	AMC/AMC	20/10	Bioanalys
Cephemler	III	CEFOTAXİME	CTX/CTX	30	Bioanalys
	IV	CEFEPİME	CPM/FEP	30	Bioanalys
	II	CEFUROXİME	CRX/CXM	30	Bioanalys
	Sefalosporin I	CEPHALOTİN	CFL/KF	30	Bioanalys
	Sefalosporin III	CEFTAZİDİME	CAZ/CAZ	30	Bioanalys
Penemler	Karbapenem	ERTAPENEM	ETP/ETP	10	Bioanalys
	Karbapenem	MEROPENEM	MER/MEM	10	Bioanalys
Aminoglikozitler		GENTAMİCİN	GEN/CN	10	Bioanalys
		AMİKACİN	AMI/AK	30	Bioanalys
Kinonlar	Kinolon I	NALİDİKSİC ACİD	NAL/NA	30	Bioanalys
	Florokinolon	NORFLOXACİN	NOR/NOR	10	Bioanalys
	Florokinolon	CİPROFLOXACİN	CIP/CIP	5	Bioanalys
Folat yolu inhibitörleri		TRİMETHOPRİM/ SULFAMETHOXAZ OLE	SUT/SXT	1.25/23.75	Bioanalys
Diğer antibiyotikler		FOSFOMYCİN	FOS/FF	200	Bioanalys
	Nitrofuran	NİTROFURANTOİN	NIT/F	300	Bioanalys

* Antibiyotiklerin üretici firmasına ait semboller

3.1.5 DNA ekstraksiyon kiti

Bu çalışma kapsamında kullanılan kit türleri ve üretici firmaları Çizelge 3.5’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.5: Çalışma kapsamında kullanılan kit ve üretici firması

Kit	Amacı	Üretici firma
PureLink Genomic DNA Mini Kiti	DNA ekstraksiyon kiti	Thermo Fisher Scientific

3.1.6 Molekül ağırlığı DNA belirteci

Bu çalışmada PZR tekniklerinde kullanılan malzemeler Çizelge 3.6’de gösterilmiştir

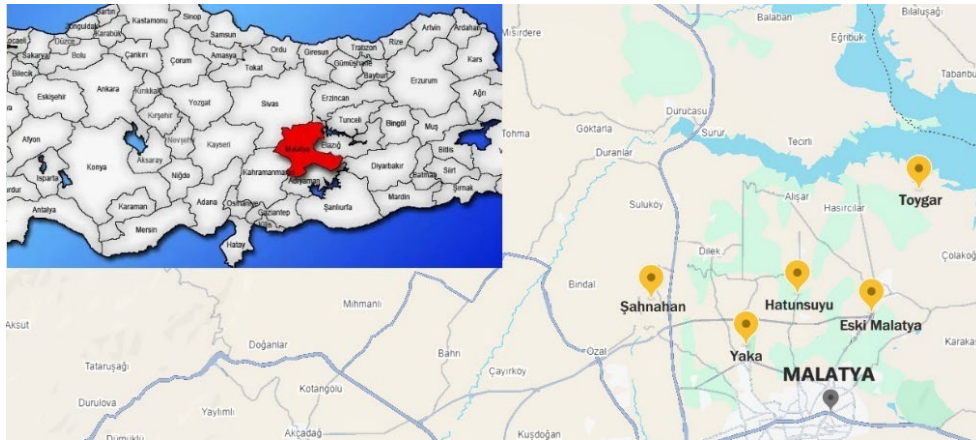
Çizelge 3.6: Molekül ağırlığı DNA belirteci

DNA Belirteci	Açıklama	Üretici Firma
Yükleme boyası ile 50 bp merdiven	50-1500 baz çifti (bp). Merdiven (50,100,150,200,250,300,350,400,450,500,600,700,800,900 1000,1200,1500 bp) aralığında olan DNA parçacık merdiveninden oluşmaktadır.	GeneDireX

3.2 Yöntem

3.2.1 Çiğ süt örneklerinin toplanması

Malatya ilinde tüketime sunulan çiğ sütlerden, 23 Mayıs 2024 ile 14 Ekim 2024 tarihleri arasında toplam 122 köy sütü örneği toplanmıştır. Süt örnekleri direkt üreticisinden toplanmıştır. Bu örnekler Toygar, Hatunsuyu-Mahmutlu, Şahnahan, Yaka ve Eski Malatya bölgelerini kapsayan kırsal yerleşim alanlarından temin edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Örneklerin toplandığı lokasyonlar

Her bir süt örneği, yaklaşık 50 mL olacak şekilde steril taşıma kaplarına alınarak, soğuk zincir koşullarında (4 ± 1 °C) Fen-Edebiyat Fakültesi Endüstriyel Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı'na ulaştırılmıştır (Şekil 3.2). Laboratuvara ulaştırılan örnekler aynı gün içerisinde analiz öncesi hazırlık işlemlerine tabi tutulmuştur.



Şekil 3.2: Süt numunelerinin soğuk zincir altında steril kavanozlarda laboratuvara getirilmesi

Örnekleme yapılan lokasyonlara ve numune sayılarına ilişkin bilgiler Çizelge 3.7'de sunulmuştur.

Çizelge 3.7: Süt numunelerinin alındığı lokasyonlar ve numune sayısı

Lokasyon #	Lokasyon Adı	Numune #
L1	Toygar	15-3 %20
L2	Hatunsuyu-Mahmutlu	37-10 %27
L3	Şahnahan	20-6 %30
L4	Eski Malatya	12-0
L5	Yaka	38-13 %34
Toplam numune sayısı		122

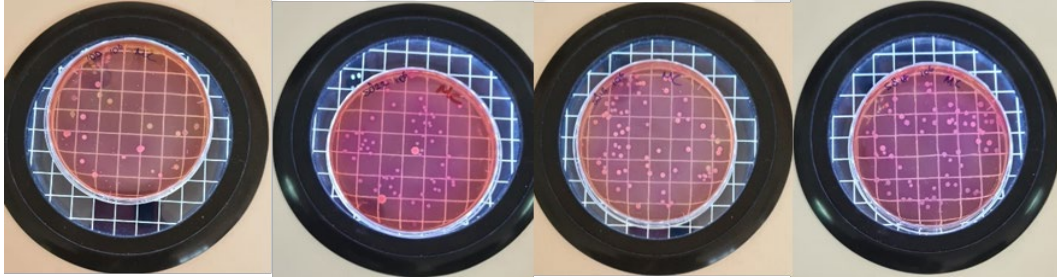
3.2.2 Çiğ süt örneklerinin analize hazırlanması

Analiz amacıyla farklı coğrafi bölgelerden temin edilen çiğ süt örnekleri, soğuk zincir koşulları altında ve mümkün olan en kısa sürede laboratuvara ulaştırılmıştır. Zenginleştirme işlemi için her bir çiğ süt örneğinden 1 mL alınarak, 9 mL steril peptonlu su içerisine inoküle edilmiştir. Bu karışım, 37 °C'de 110 rpm'de çalkalayıcı inkübatörde 18–24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Ayrıca, çiğ süt örneklerinden doğrudan 100 µL alınarak MAC besiyerine yayma plak (spread plate) yöntemiyle ekim yapılmış ve plaklar 37 °C'de 18–24 saat inkübe edilmiştir.



Şekil 3.3: Çiğ süt örneklerinin MAC agar besiyerindeki üreme görüntüleri (37°C’de 18-24 saat inkübasyon sonrası)

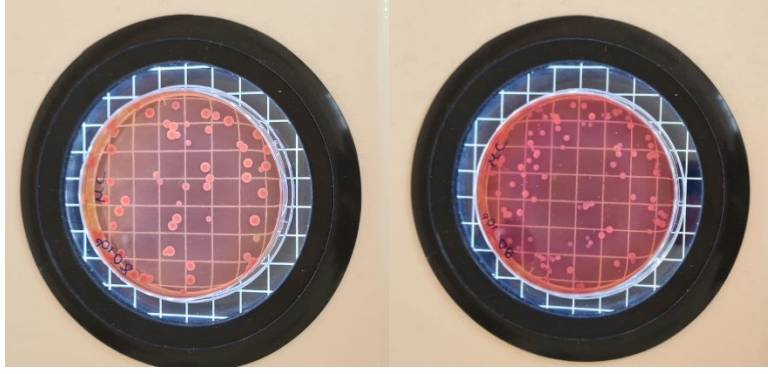
İnkübasyon sonunda, Şekil 3.3’de gösterilen MAC agar besiyerindeki bakteri üreme yoğunlukları temel alınarak, zenginleştirme işlemi uygulanmış çiğ süt örneklerine seri sulandırma işlemi uygulanmıştır. Örneklerdeki toplam bakteri sayısının tekil koloni formunda belirlenebilmesi amacıyla, %0.9 (a/h) serum fizyolojik (SF) çözeltisi ile ardışık dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu kapsamda, her bir süt örneğinden 1 mL alınarak 9 mL SF ile 1:10 oranında karıştırılmış ve 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} düzeylerinde dilüsyonlar elde edilmiştir. Hazırlanan her bir dilüsyondan 0.1 mL alınarak, steril koşullarda yüzey yayma (spread plate) yöntemiyle MAC agar besiyerine ekim yapılmıştır. Ekim sonrası plaklar, 37 °C’de 18–24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4: Seri sulandırım sonrasında MAC agar besiyerinde üreyen bakteri kolonilerinin görüntüsü

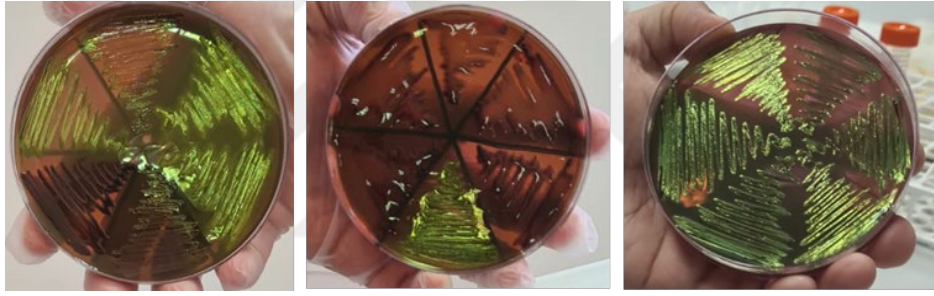
3.2.3 *E. coli* izolasyonu ve saf kültür elde edilmesi

MAC agar besiyerinde gözlenen pembe-kırmızı renkteki laktoz fermentasyonu yapan bakteriyel koloniler (Şekil 3.5), koloni sayım cihazı yardımıyla tespit edilmiştir. Belirlenen koloniler steril iğne öze kullanılarak alınmış ve EMM agar plaklarına çizgi ekim yöntemiyle inoküle edilmiştir. Hazırlanan plaklar, 37 °C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.



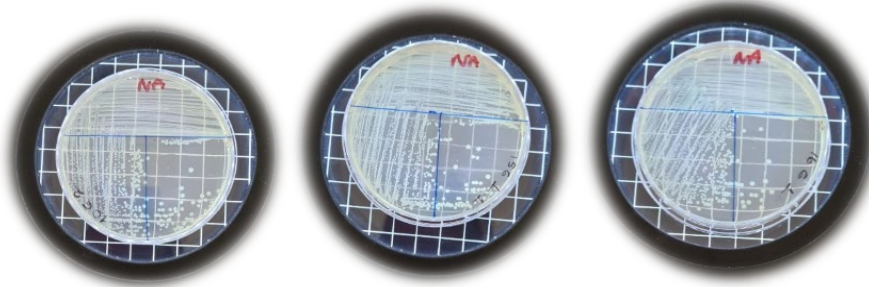
Şekil 3.5: MAC agarda pembe-kırmızı koloni görünümü.

EMM agar üzerinde, *E. coli*'nin karakteristik özelliği olan metalik parlak yeşil renkte koloniler gözlemlenmiştir (Şekil 3.6). Bu metalik röfle oluşturan kolonilerden, steril öze yardımıyla alınan örnekler Nutrient agar besiyerine tek koloni düşürme yöntemiyle ekilmiştir. Ekim yapılan plaklar, saf koloni elde etmek amacıyla 37 °C'de 18–24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

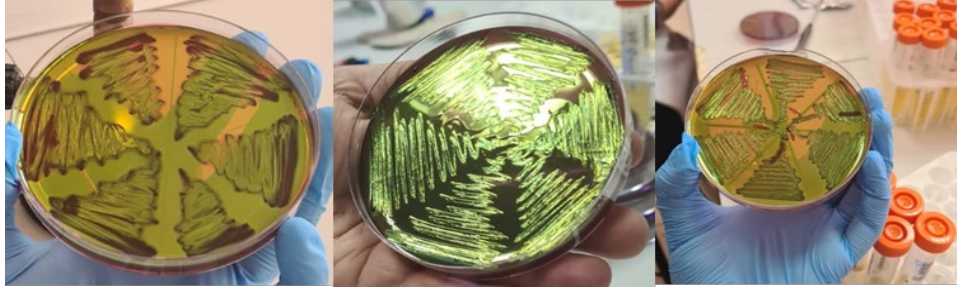


Şekil 3.6: EMM agarda bakterilerin metal röfle görüntüleri

Nutrient agar besiyerine yapılan ekim sonrası, 37 °C'de 24–48 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan tekil kolonilerden altı tanesi (Şekil 3.7), iğne öze yardımıyla alınarak saf kültürün tekrar test edilmesi amacıyla EMM agar besiyerine çizgi ekimi yöntemiyle inoküle edilmiştir. Ekim yapılan plaklar, 37 °C'de 18–24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu yöntem sayesinde, EMM agar üzerinde bakterilerin karakteristik koloni morfolojileri daha net bir şekilde gözlemlenebilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.7: Nutrient agarda tek koloni gösterimi.



Şekil 3.8: İkinci kez doğrulama işlemleri sonrasında EMM agarda bakterilerin metal röfle görüntüleri

EMM agar üzerinde yeniden metalik röfle yapan izolatlar, kesin doğrulama işlemleri öncesinde, uzun süre biyolojik olarak aktif kalmalarını ve saklanmalarını sağlamak, ayrıca sadece hedef mikroorganizmanın çoğalmasını desteklemek amacıyla sıvı besiyerine aktarılmıştır. Her bir süt örneğinden en az bir, en fazla üç olmak üzere üç farklı bakteri kolonisinden örnek alınarak kültür çalışmaları yapılmıştır. Steril  ze yardımıyla EMM agar üzerinde üreyen kolonilerden alınan  rnekler, Brain Heart Infusion (BHI) sıvı besiyerine inoküle edilmiş ve 37  C’de 110 rpm hızında çalkalayıcı inkübatörde 18–24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9: EMM agarda metalik röfle yapan bakterilerin BHI sıvı besiyerine inokule edilmesi

3.2.4 Bakteri kültürlerinin dondurulması ve saklanması

Sıvı besiyerinde çoğaltılan numuneler, 24 saat inkübasyonun ardından dondurulmak üzere etüvden çıkarılmıştır. Steril endorf tüplere aseptik koşullarda alikotlanarak (800  L bakteri kültürü) alınan örneklere, bakterilerin dondurma sırasında zarar görmesini önlemek amacıyla %85 (h/h) gliserol çözeltisi kriyoprotektan olarak eklenmiştir. Kültür ve kriyoprotektanın homojen şekilde karışması için vorteksle iyice karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımlar her numune için uygun şekilde etiketlendikten sonra, -20  C sıcaklıktaki dondurucuda saklanmak üzere kaldırılmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10: Kriyoprezervasyona hazırlanan bakteri kültürleri

3.3 *E. coli* İzolatlarının Karakterizasyonu

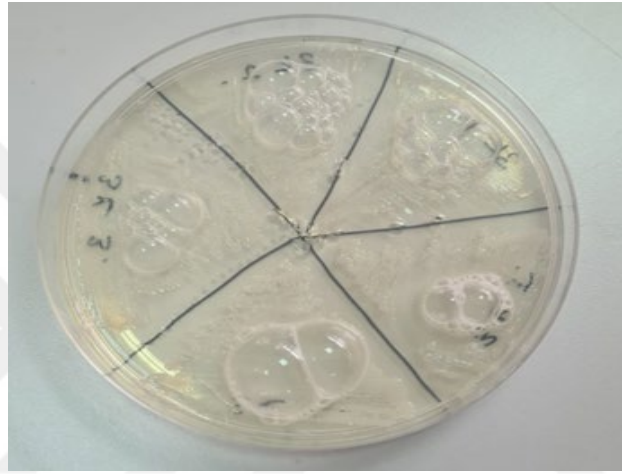
Tüm kültür stokları, *E. coli* veya diğer *Enterobacter* türlerinin karakterizasyonunun yapılabilmesi amacıyla -80°C dondurucudan çıkarılarak kırık buz içeren bir kapta çözündürülmüştür. Tamamen çözünen örneklerden 200 µL, önceden hazırlanmış 20 mL Mueller Hinton Broth (MHB) sıvı besiyerine inoküle edilmiştir. Yaklaşık %1 oranında (h/h) hazırlanan bu kültürler, 37°C sıcaklıkta ve 110 rpm'de 18–24 saat süreyle çalkalayıcı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin ardından, *E. coli* olduğu düşünülen izolatların karakterizasyonu için katalaz, oksidaz, IMViC ve TSI biyokimyasal testleri ile Gram boyama ve antibiyotik duyarlılık testi (antibiyogram) uygulanmıştır.

3.3.1 Gram boyama

Gram boyama, izolatların temel morfolojik özelliklerinin incelenmesi amacıyla uygulanmıştır. Bu işlem için sıvı besiyerinde çoğaltılan kültürden 1–2 öze dolusu örnek temiz bir lam üzerine alınarak ince bir film tabakası halinde yayılmıştır. Hazırlanan preparat oda sıcaklığında havada kurutulmuş ve ardından tespit amacıyla alevden birkaç kez geçirilmiştir. Boyama işlemi sırasıyla; preparatın 1–2 dakika kristal viyole ile boyanması ve ardından boyanın fazlasının saf su ile yıkanması ile başlamıştır. Sonrasında preparat 1 dakika süreyle Lügol solüsyonu ile muamele edilmiş, ardından %95'lik etanol çözeltisi kullanılarak dekolorizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Dekolorizasyon sonrası preparat 1 dakika süreyle safranin ile karşıt boyamaya tabi tutulmuştur. Kurutma işleminin ardından lam üzerine immersiyon yağı damlatılarak, preparat ışık mikroskopunda 100X objektif büyütmesinde incelenmiştir.

3.3.2 Katalaz testi

Katalaz testi, bazı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen katalaz enziminin varlığını saptamak amacıyla uygulanmaktadır. Katalaz enzimi, hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülünü su (H_2O) ve oksijen (O_2) olmak üzere parçalayabilen bir enzimdir. Bu testte, sıvı kültürden elde edilen izolatlar, Nutrient agar katı besiyerinde 24 saat inkübe edildikten sonra, koloniler üzerine %3'lük hidrojen peroksit (h/h) çözeltisi damlatılmıştır. Damlatma işlemi takiben gözlemlenen kabarcık oluşumu, katalaz enziminin varlığına işaret etmiş ve bu durum pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Kabarcık oluşmaması ise negatif sonuç olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.11)



Şekil 3.11: Katalaz testinin uygulanması

3.3.3 Oksidaz testi

Oksidaz testi, bazı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen oksidaz enziminin varlığını belirlemek amacıyla uygulanmaktadır. Bu test, özellikle Gram-negatif aerobik ve fakültatif anaerobik bakterilerin ayırt edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Testin uygulanmasında, sıvı kültürden bir öze dolusu numune alınarak oksidaz test kiti şeridi üzerine sürülmüştür. Şerit üzerinde koyu mor renk oluşumu gözlemlenmesi durumunda test sonucu pozitif, mavi renk oluşumu durumunda ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.12).

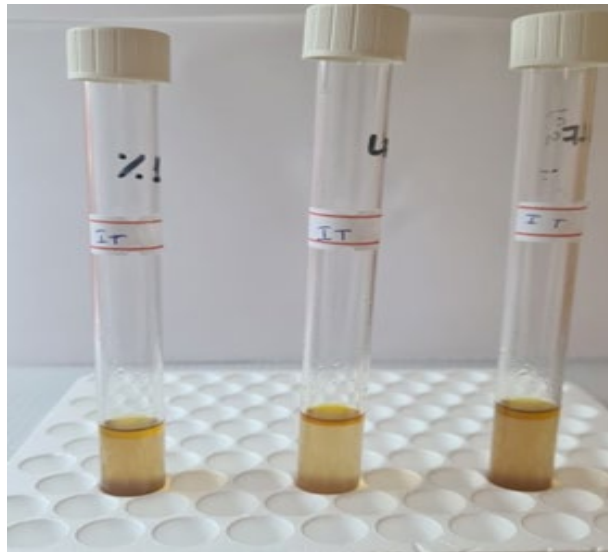


Şekil 3.13: TSI testinin uygulanması

3.3.5 İndol testi

İndol testi, bakterilerin triptofan adlı aminoasidi parçalayarak indol üretme yeteneklerini belirlemek amacıyla uygulanmaktadır. Bu test, özellikle bazı bakterilerin tanımlanmasında ayırt edici bir rol oynamaktadır. İndol, bakterilerde bulunan triptofanaz enzimi aracılığıyla triptofanın hidrolize edilmesi sonucu oluşan nitrojenli bir bileşiktir. İndol, aldehitlerle reaksiyona girerek kırmızı renkli bir kompleks oluşturur.

Testin uygulanmasında, hazırlanan sıvı kültürden steril öze ile (bir öze dolusu) alınan numune Triptophan Broth besiyerine batırılarak inoküle edilmiştir. Tüpler, 37°C’de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından her tüpe 0,5 mL Kovac’s reaktifi eklenmiş ve tüpler hafifçe çalkalanmıştır. Reaksiyon sonucunda besiyerinin üst kısmında kiraz kırmızısı renkli bir halka oluşması indol pozitif (+), sarı renkli bir halka oluşması ise indol negatif (–) olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.14).



Şekil 3.14: İndol testinin uygulanması

3.3.6 Metil kırmızısı (MR) testi

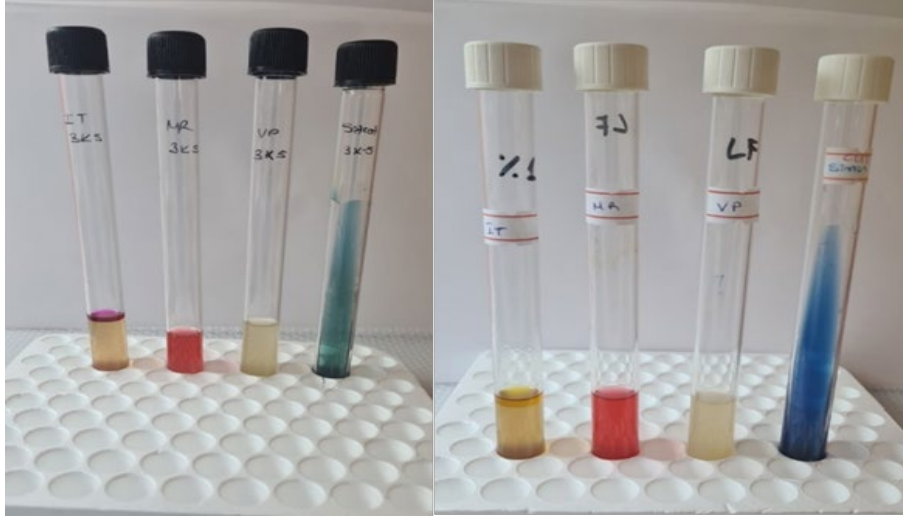
MR testi, bakterilerin glukozu fermente ederek organik asit üretme kapasitesini ve bu yolla ortam pH'sını 4,4'ün altına düşürme yeteneğini değerlendirmek amacıyla uygulanmaktadır. Bu test, özellikle enterik bakterilerin cins ve tür düzeyinde ayırt edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ortamda oluşan organik asitlerin pH'yı düşürmesi sonucunda, bu değişimin saptanabilmesi için kültüre metil kırmızısı indikatörü eklenmektedir. Bu indikatör pH 6,2'de sarı, pH 4,2 ve altında ise kırmızı renk almaktadır.

Testin uygulanmasında, 5 mL MR-VP sıvı besiyeri içeren tüplere 18 saat inkübe edilen kültürden inokülasyon yapılmıştır. Tüpler, 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından kültür ortamına metil kırmızısı indikatörü ilave edilmiştir. Kırmızı renk oluşumu testin pozitif olduğunu, sarı veya kehribar renk oluşumu ise negatif olduğunu göstermektedir (Şekil 3.15).

3.3.7 Voges-Proskauer (VP) testi

VP testi, bazı bakterilerin glukozu fermente ederek nötral son ürün olan aseton (asetil metil karbinol) oluşturma yeteneğini belirlemek amacıyla uygulanmaktadır. Bu özellik, bakterilerin tür düzeyinde ayırt edilmesinde önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır. Aseton, potasyum hidroksit (KOH) varlığında oksitlenerek diasetile dönüşür. Oluşan diasetil, ortamda bulunan alfa-naftol ile reaksiyona girerek kırmızı renkli bir kompleks oluşturur.

Testin uygulanmasında, 5 mL MR-VP sıvı besiyeri içeren tüplere incelenen bakteri kültüründen inokülasyon yapılmış ve tüpler 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında her tüpe sırasıyla 600 µL %40'luk KOH çözeltisi ve ardından 600 µL alfa-naftol çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpler iyice karıştırılmış ve yaklaşık 10–15 dakika beklenmiştir. Reaksiyon sonucunda kırmızı renk oluşumu VP pozitif, herhangi bir renk oluşmaması ise VP negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15: MR-VP testlerinin uygulanması

3.3.8 Sitrataz testi

Sitrataz testi, bakterilerin karbon kaynağı olarak sitratları, azot kaynağı olarak ise amonyum tuzlarını metabolize etme yeteneklerini belirlemek amacıyla uygulanmaktadır. Bu test aynı zamanda bakterinin cins ve tür düzeyinde tanımlanmasında önemli bir parametre olarak kullanılır. Bakteriler, sitratı sitrataz veya sitrat demolaz enzimleri aracılığıyla metabolize ederler.

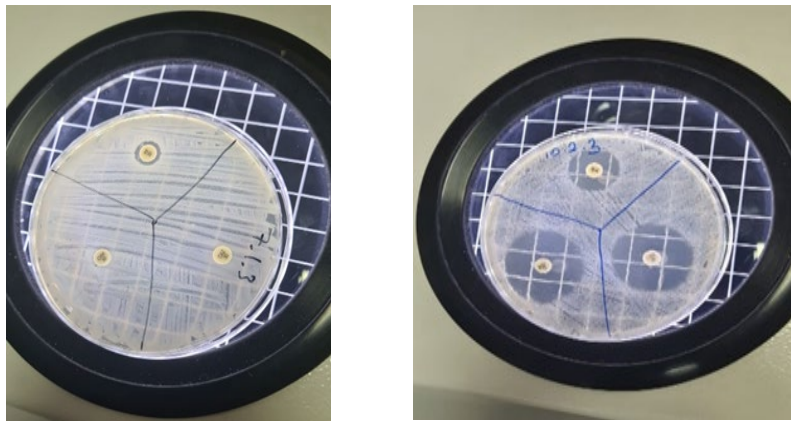
Testin uygulanmasında, yatık agar formunda hazırlanmış Simmons Sitrataz Agar besiyerine test edilecek bakteriden steril öze ile yüzeye inokülasyon yapılmıştır. İnokülasyon sonrası tüpler 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda besiyerinde gözlemlenen renk değişimi değerlendirilmiştir. Besiyerinin orijinal yeşil renginin koyu maviye dönüşmesi pozitif, rengin yeşil olarak kalması ise negatif sonuç olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16: Sitrataz testinin uygulanması

3.4 Antibiyogram Testleri

Biyokimyasal testler sonucunda *E. coli* olarak tanımlanan, 47 adet çiğ süt örneğinden izole edilen toplam 115 farklı bakteri örneğinin antibiyogram testi gerçekleştirilmiştir. *E. coli* suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılık profillerinin belirlenmesi amacıyla (Kirby-Bauer metodu) disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Mueller-Hinton Agar (MHA) katı besiyeri test edilecek kültürler için kullanılmıştır. Öncelikle -20 °C’de derin dondurucuda (% 85’lik gliserol çözeltisi (v/v) içinde) dondurulan bakteri kültürü kırık buz içinde çözündürülmüştür. Hazırlanmış 20 mL MHB içeren sıvı besiyerine, tamamen çözünmüş örneklerden 200 µL eklenerek %10 (v/v) oranında kültür oluşturuldu. Hazırlanan karışım, 37 °C’de ve 110 rpm hızında çalkalamalı inkübatörde 18–24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 0.5 McFarland standardına göre sulandırılan stok bakteri kültürlerinden 100 µL, MHA besiyeri yüzeyine drigalski çubuğu ile homojen şekilde yayılarak 37°C’de 15 dakika inkübe edilmiştir. Her bir bakteri kültürü için toplamda 7 adet ayrı MHA plakları etiketlenmiştir. Bu plaklardan ilk 5 tanesine 3’er adet farklı antibiyotik diski, kalan 2 tanesine ise 2’şer adet farklı antibiyotik diski CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standartlarına göre ayarlanmış uzaklıklarda yerleştirilmiştir. Toplamda 19 farklı antibiyotik kullanılarak her bir bakteri kültürünün antibiyotik duyarlılık profili belirlenmiştir. Disklerin yerleştirilmesinden sonra plaklar 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası antibiyotik disklerinin çevresindeki inhibisyon zon çapları, CLSI standartlarına göre, elektronik kumpas ile ölçülmüştür. Sonuçlar CLSI standartlarına göre değerlendirilmiştir (Şekil 3.17).



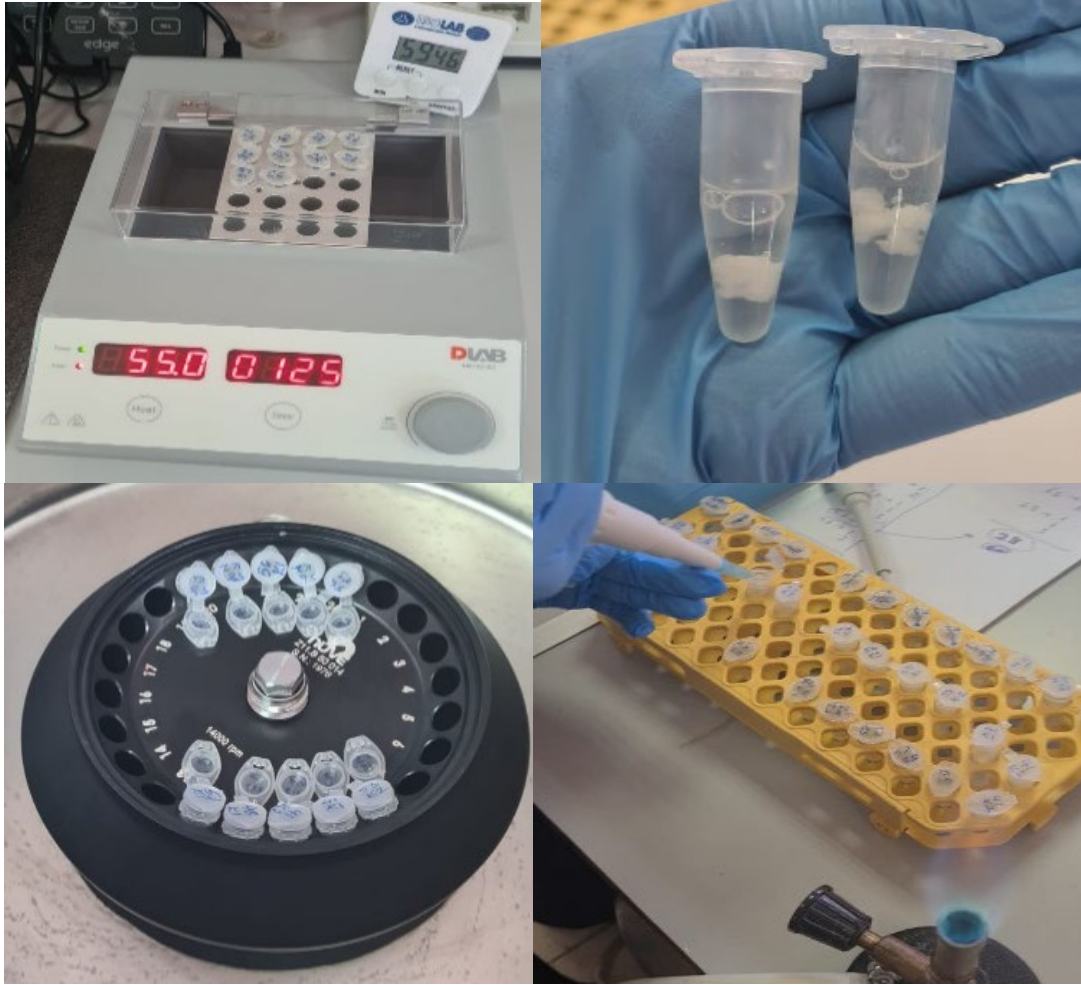
Şekil 3.17: Antibiyogram testinin uygulanması

3.5 Genomik DNA İzolasyonu

Bakteri kültürleri (%85'lik gliserol çözeltisi (v/v) içinde), DNA izolasyonu için, dondurucudan çıkarılıp kırık buz dolu bir kaptaki çözündürüldü. Tamamen çözünen örnekler daha önceden hazırlanan 20 mL MHB sıvı besiyerine 200 µL inoküle edildi. %10'lik (v/v) oranda hazırlanan kültür 37°C'de, 110 rpm'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası *E. coli* olduğu düşünülen izolatların DNA izolasyonu Genomik DNA izolasyon kiti (PureLink Genomic DNA Mini Kiti, Thermo Fisher Scientific) kullanılarak gerçekleştirildi.

İşleme başlamadan önce ısı bloğu 55°C'ye ayarlandı. -20°C'de saklanan ve ön inkübasyonu tamamlanan 1000 µL sıvı bakteri kültürü (2×10^9 cfu/mL) 10.000 × g'de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonrası elde edilen hücre pelletleri 180 µL Genomik Parçalama Tamponu (Genomic Digestion Buffer) içinde süspanse edildi ve üzerine 20 µL Proteinaz K eklenerek lizis işlemi başlatıldı. Tüpler, 55°C'de lizis tamamlanana kadar (yaklaşık 1 saat) ara ara yavaşça vortekslendi. Lizis sonrasında, 20 µL RNase A eklendi ve karışım oda sıcaklığında 1 dakika bekletildi. Ardından, hücre lizatına 200 µL Genomik Lizis/Bağlama Tamponu (Genomic Lysis/Binding Buffer) ve 200 µL etanol (%96–100 v/v) ilave edilerek karışım pipetaj yardımıyla homojen hale getirildi. Elde edilen lizat (~640 µL) döndürme kolonuna (PureLink® Spin Column) alındı.

Kolon, oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 10.000xg'de santrifüj edildi. Kolonun toplama tüpü (Collection Tube) değiştirildikten sonra, birinci yıkama adımında, kolona 500 µL etanollü yıkama tamponu 1 (Wash Buffer 1) eklenerek aynı hızda santrifüjleme gerçekleştirildi. İkinci yıkama aşamasında, 500 µL yıkama tamponu 2 (Wash Buffer 2) kolona uygulandı ve 3 dakika süreyle maksimum hızda santrifüj edildi. DNA elüsyonu için döndürme kolonu, steril 1.5 mL mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi; ardından kolona 200 µL elüsyon tamponu (Genomic Elution Buffer) eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika beklendikten sonra maksimum hızda santrifüjleme işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen saf 115 bakteri genomik DNA örnekleri, uzun süreli saklama amacıyla -20°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi (Şekil 3.18).



Şekil 3.18: DNA izolasyonuna yönelik uygulamalar

3.6 UPEC Virülans Genlerinin Tanımlanması

3.6.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Bu iş paketi kapsamında, *E. coli* izolatlarının üropatojenik potansiyelini değerlendirmek amacıyla, izole edilen bakteri genomik DNA örneklerinin PZR reaksiyonları gerçekleştirildi. Bakteri örneklerinin antibiyogram test sonuçlarının CLSI standartlarına göre değerlendirilmesine göre 115 adet genomik DNA örneklerinin sadece 69 adetinin UPEC virülans genlerinin tespiti gerçekleştirildi. Değerlendirme sonucunda birbirine yakın inhibisyon zonu değerlerine sahip olan bakteri örnekleri ileri analize alınmamıştır. PZR reaksiyonu, hedef virülans genlere yönelik spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *E. coli* izolatlarının genetik profillemesi için toplamda 10 virülans gen bölgesi hedeflenmiş ve PZR analizi yapılmıştır. İlk olarak, *fimA* virülans geni analizi için seçilen 69 bakteri örneğiyle PZR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. 25 µl PZR karışımı, aşağıdaki gösterildiği gibi hazırlanmıştır (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8: UPEC virölans genlerin PZR reaksiyon karışımı

PCR bileşenleri	Hacim (µl)
Distile su (dH ₂ O)	18.45 µl
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl (2 mM)
10x Taq tamponu	2.5 µl (1x)
dNTP Mix (10 mM)	0.5 µl (0.2 mM)
Forward primer (<i>fimA</i>) (100 µM)	0.125 µl (0.5 µM)
Reverse primer (<i>fimA</i>) (100 µM)	0.125 µl (0.5 µM)
Taq DNA Polimeraz (5U/µL)	0.3 µl (1.5 U)
PZR karışımının toplam hacmi	24 µl
<i>E. coli</i> DNA'sı	1 µl
Toplam hacim	25 µl

Bu karışım, toplam 30 reaksiyon için hazırlanmış ve 30 farklı bakteri genomik DNA'sının PZR analizi, Çizelge 3.9'da belirtilen PZR koşullarına göre gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.9: DNA amplifikasyonunda kullanılan PCR koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Pre-denatürasyon	95	6 dk	1
Denatürasyon	94	40 sn	
Primer Bağlanması (Annealing)	60	45 sn	35
Zincir Uzaması (Ekstensiyon)	72	60 sn	
Son Uzama (Ekstensiyon)	72	12 dk	1

Bütün bu adımlar, *fimA* virölans geninin amplifikasyonu için uygulanmış olup, aynı prosedür 70 bakteri örneği için tekrarlanmıştır. PZR protokolünde, genel olarak 60°C'de 40 saniyelik annealing süresi uygulanmış, ancak *iroN*, *kpsMII*, *agn43* ve *iutA* genleri için bu sıcaklık 58°C olarak optimize edilmiştir. Çizelge 3.10'da forward ve reverse primer dizileri verilen primerler, sentezlendikten sonra araştırma laboratuvarlarımıza liyofilize halde gelmiştir. Liyofilize primerler nükleaz içermeyen suda (Nuclease-free water) konsantrasyonu 100 µM olacak şekilde hazırlanmıştır (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.10: UPEC virülans genleri, primer dizileri ve amplikon büyüklükleri.

Virülans geni	Primer dizisi	Amplikon büyüklüğü (bp)
<i>hlyA</i>	F: AACAAAGGATAAGCACTGTTCT R: ACCATATAAGCGGTCATTCCC	1177
<i>papC</i>	F: GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG R: ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA	328
<i>cnfI</i>	F: AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG R: CATTGAGAGTCCTGCCCTCATTATT	498
<i>fimA</i>	F: GTTGTTCTGTCTGGCTCTGTC R: ATGGTGTGTTGGTTCCGTTATTC	447
<i>fyuA</i>	F: TGATTAACCCCGCGACGGGAA R: CGCAGTAGGCACGATGTTGTA	785
<i>vat</i>	F: AGAGACGAGACTGTATTTGC R: GTCAGGTCAGTAACGAGCAC	289
<i>iroN</i>	F: AAGTCAAAGCAGGGGTTGCCCCG R: GACGCCGACATTAAGACGCAG	667
<i>kpsMII</i>	F: GCGCATTTGCTGATACTGTTG R: AGGTAGTTCAGACTCACACCT	578
<i>agn43</i>	F: CTGGAAACCGGTCTGCCCTT R: CCTGAACGCCAGGGTGATA	433
<i>iutA8</i>	F: GGCTGGACATCATGGGAACTGG R: CGTCGGGAACGGGTAGAATCG	302

PZR amplifikasyonu sonrasında elde edilen DNA ürünlerinin analizi, agaroz jel elektroforezi yöntemi ile gerçekleştirildi. Jel hazırlığı için 3.25 g agaroz (Sigma-Aldrich, ABD) tartılarak 130 mL 1X TBE tamponu (Tris-Borate-EDTA) içerisinde çözdürüldü. Karışım, mikrodalga fırında tam çözünme sağlanana kadar ısıtılmış, ardından 70–75°C sıcaklığa düşene kadar bekletilmiştir. Soğuyan agaroz solüsyonuna 0.5 µL etidyum bromür (EtBr; 10 mg/mL stok) eklenerek homojen şekilde karıştırıldı ve jel döküm tankına aktarıldı. PZR ürünleri, 6x yükleme tamponu (loading dye) ile karıştırılarak her kuyucuğa PCR reaksiyon karışımının tamamı (25 µL) dikkatlice yüklenmiştir. İlk kuyucuğa ise 50 bp marker (GeneDirex 50bp) yerleştirilmiştir. Elektroforez işlemi yaklaşık 45–60 dakika devam ettirilmiştir. Yürütme işleminin ardından jel UV dökümantasyon sisteminde (SYNGENE Ingenius 3, England) görüntülenmiş ve amplifikasyon ürünlerinin varlığı genlere spesifik bant formasyonları ile doğrulanmıştır (Şekil 3.19).



Şekil 3.19: fimA virülans geninin tespitine yönelik PZR ve elektroforez uygulamaları

Çalışmada seçilen 69 adet *Escherichia coli* izolatında, çeşitli virülans genlerinin dağılımını belirlemek amacıyla yapılan PZR yönteminde; Her bir izolat, hedeflenen 10 farklı virülans geninin varlığı açısından analiz edilmiş; elde edilen amplifikasyon ürünleri agaroz jel elektroforezi ile değerlendirilerek, ilgili genlerin pozitif (+) veya negatif (–) varlığına göre sınıflandırılmıştır.

3.6.2 16S rRNA analizi

Ardından aynı 69 bakteri genomik DNA örneği 16S rRNA geni tespitine yönelik PZR uygulanarak sekanslama işlemi için hazırlandı. 16S rRNA geninin tespitine yönelik PZR karışımı Çizelge 3.11’ de verilmiştir.

Çizelge 3.11: 16S rRNA PZR reaksiyon karışımı

PCR bileşenleri	Hacim (µl)
Distile su (dH ₂ O)	40,1
10x Taq tamponu (MgCl ₂ ihtiva eden)	7
dNTP Mix	0.5
Forward primer (27F)	0.2
Reverse primer (1492R)	0.2
Taq DNA Polimeraz:	1
PZR karışımının toplam hacmi	49
<i>E. coli</i> DNA’sı	1
Toplam hacim	50

Bu karışım, toplamda 30 reaksiyon için hazırlanarak, 30 farklı bakteri genomik DNA’sının PZR analizi yapıldı. Universal forward primer (27F) ve reverse primer (1492R) kullanılmıştır. Bu şekilde 69 adet bakteri DNA’sının tümünün 16S rRNA PZR işlemleri gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.12).

Çizelge 3.12: 16S rRNA gen dizilerinin PZR işlemlerinde kullanılan primerlerin özellikleri

Primer	Primer dizisi	Hedef
27 F	5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	Universal
1492 R	5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T	Universal

Techne TC-5000 (California, USA) marka thermal cycler cihazında termal parametreler Çizelge 3.13’ de verilmiştir.

Çizelge 3.13: 16S rRNA PZR koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Pre-denatürasyon	95	5 dk	1
Denatürasyon	95	1dk	
Primer Bağlanması (Annealing)	63	1dk	35
Zincir Uzaması (Ekstensiyon)	72	1dk	
Son Uzama (Ekstensiyon)	72	10 dk	1

PZR işleminden sonra elde edilen ürünler, loading dye ile karıştırılarak önceden hazırlanmış %1,5 agaroz jelde kuyucuklara yüklendi ve 80 V, 150 mA akım altında elektroforez ile

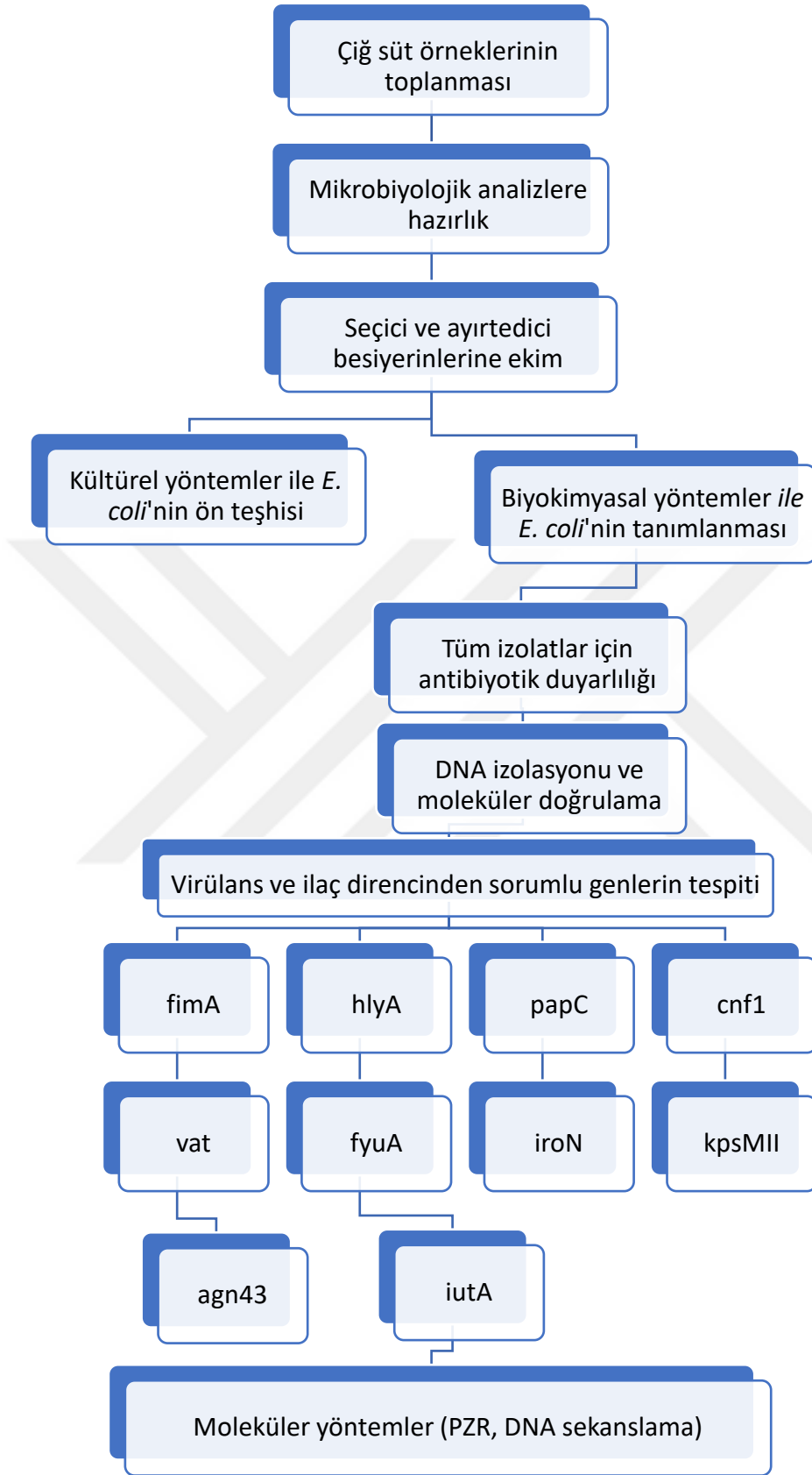
ayrıştırıldı. Ayrıştırılan ürünler, jel görüntüleme ve dokümantasyon sistemi (SYNGENE Ingenius 3, England) kullanılarak görüntülenmiştir (Şekil 3.20).



Şekil 3.20: 16S rRNA geni PZR ve elektroforez uygulamaları

16S rRNA genine özgü primerlerle PZR amplifikasyonları sonucunda tek ve baskın bant veren 69 adet DNA örneğinden elde edilen amplikonlar, genetik sekans analizi yapılmak üzere soğuk zincir koşullarında AQUATAYF Biyoteknoloji AR-GE Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti. laboratuvarına gönderilmiştir.

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen laboratuvar temelli deneysel aşamaların sistematik özeti, Şekil 3.21’de şematik biçimde sunulmuştur.

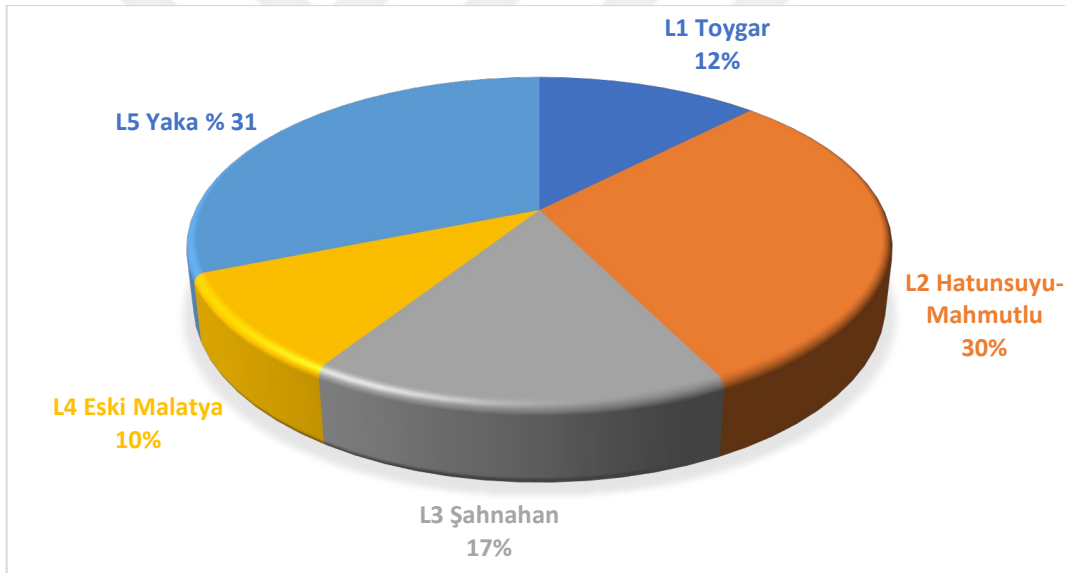


Şekil 3.21: Deneysel aşamaların sistematik özeti

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Süt Örneklerinin Toplanması ve Lokasyonlara Göre Dağılımı

Çalışma kapsamında, 23 Mayıs – 14 Ekim 2024 tarihleri arasında Malatya ilinin beş farklı kırsal bölgesinden toplam 122 adet çiğ süt numunesi toplanmıştır. Numuneler, doğrudan üreticilerden temin edilmiştir. Toplanan çiğ süt numunelerinin lokasyonlara göre yüzdesel dağılımı Şekil 4.1’de görülmektedir. Yaka (% 31.1) ve Hatunsuyu-Mahmutlu (% 30.3) bölgeleri, toplam örneklerin % 61.4’ünü oluşturarak en fazla numune alınan lokasyonlar olmuştur. Toygar (% 12.3) ve Eski Malatya (% 9.8) ise en düşük orana sahip iki lokasyondur.



Şekil 4.1: Toplanan çiğ süt numunelerinin lokasyonlara göre yüzdesel dağılımı

4.2 Mikrobiyolojik Yöntemlerle Gerçekleştirilen Bakteri İzolasyonuna İlişkin Bulgular

Toplam 122 adet çiğ süt örneği, *E. coli* izolasyonuna yönelik kültür tabanlı mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir. Örnekler öncelikle seçici bir ortam olan MAC agara ekilmiştir. MAC agardaki kırmızı/pembe koloniler EMM agar ortamına transfer edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, EMM agarda karakteristik metalik parlama (röfle) oluşturan koloniler *E. coli* ön tanısı açısından değerlendirmeye alınmıştır. Saf koloni prototiplerinin elde edilmesini takiben, EMM agara yapılan ekimlerde metalik röfle gösteren koloniler

seçilerek izole edilmiştir. Bu ön değerlendirme kriteri doğrultusunda 73 farklı süt örneğinden *E. coli* olma olasılığı taşıyan toplam 206 koloni elde edilmiştir. Her bir süt örneğinden en az bir, en fazla üç koloni seçilerek saf kültürler oluşturulmuştur. Öte yandan, EMM agarda metalik röfle göstermeyen kolonilere sahip süt örnekleri (49 adet), *E. coli* açısından ön tanı kriterlerini karşılamadıkları gerekçesiyle ileri analiz sürecine dahil edilmemiştir. Toplanan süt örneklerinin ön değerlendirme kriterlerine göre % 59.8'inin *E. coli* veya diğer *Enterobacter* türlerini içerdiği tespit edilmiştir.

4.3 İzolatların IMViC, TSI, Katalaz, Oksidaz Testleri ile Gram Boyama Sonuçları

Çiğ süt ürünleri, çeşitli bakteriyel patojenlerin taşınmasında potansiyel bir araç olarak değerlendirilmekte ve bu açıdan süt örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların doğru şekilde tanımlanması büyük önem arz etmektedir. Bu çalışma kapsamında, toplam 73 çiğ süt örneğinden izole edilen 206 koloniye IMViC testleri ve diğer temel biyokimyasal testler uygulanmıştır. IMViC test sonuçlarına göre, 47 süt örneğinden elde edilen 115 koloni, *E. coli*'ye özgü tipik biyokimyasal profili (İndol: pozitif, Metil Red: pozitif, Voges-Proskauer: negatif, Sitrat: negatif) göstermiştir. Buna ek olarak, tüm isolatlar katalaz pozitif ve oksidaz negatif olarak saptanmıştır. TSI testi sonucunda isolatlarda tipik olarak asit/asit (A/A) reaksiyonu ve gaz üretimi gözlenmiştir. Gram boyama ile yapılan mikroskopik incelemelerde ise isolatların Gram negatif çubuk morfolojisinde olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu bulgular, çiğ süt örneklerinden izole edilen bakterilerin önemli bir kısmının biyokimyasal açıdan *E. coli* ile uyumlu özellikler taşıdığını ve dolayısıyla çiğ süt tüketiminin halk sağlığı açısından potansiyel risk oluşturabileceğini ortaya koymaktadır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1: Bakteri isolatlarının IMViC, TSI, katalaz, oksidaz testleri ile gram boyama sonuçları

Koloni	IT	MRT	VPT	CUT	TSI			Katalaz	Oksidaz	Gram Boyama
					SARI RENK	GAZ ÇIKIŞ	Si*.			
3S1.	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
3S2.	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
3S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
5S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
5S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
5S3	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
7S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
7S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
7S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
9S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-

9S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
9S3	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
10S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
10S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
10S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
11S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
11S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
11S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
15S1	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
15S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
15S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
16S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
16S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
16S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
18S1	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
18S2	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
18S3	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
19S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
19S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
19S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
20S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
20S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
20S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
22S1	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
22S2	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
22S3	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
23S1	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
23S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
23S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
24S1	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-
24S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
24S3	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-
26S1	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
26S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
26S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
27S1	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
27S2	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
27S3	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
29S1	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
31S1	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
34S1	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
34S2	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
34S3	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
36S1	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
36S2	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
36S3	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
37S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
37S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
37S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
38S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
38S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
38S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
41S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
41S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
42S1	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-

45S1	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
45S2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
47S1	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
47S2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
48S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
49S1	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
49S2	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
53S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
53S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
53S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
56S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
56S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
56S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
57S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
57S2	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
58S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
58S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
59S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
61S1	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
62S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
62S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
62S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
63S1	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
63S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
63S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
66S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
66S2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
66S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
68S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
68S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
68S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
69S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
69S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
69S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
70S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
70S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
70S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
72S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
72S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
72S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
73S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
73S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
73S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
75S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
75S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
75S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
76S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
76S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
76S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
77S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
77S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
77S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
78S1	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
78S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
78S3	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-

80S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
80S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
80S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
81S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
81S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
81S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
90S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
90S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
90S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
94S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
94S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
94S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
96S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
96S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
96S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
97S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
97S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
97S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
102S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
102S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
102S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
103S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
103S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
103S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
105S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
105S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
105S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
106S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
106S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
106S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
107S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
107S2	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
107S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
108S1	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
108S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
108S3	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
109S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
109S2	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
109S3	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
110S1	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
110S2	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
110S3	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
111S1	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
111S2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
111S3	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
112S1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
112S2	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
112S3	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
113S1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
113S2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
113S3	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
114S1	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
114S2	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
114S3	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
115S1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-

115S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
115S3	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
116S1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
116S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
116S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
117S1	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
117S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
117S3	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
118S1	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
118S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
118S3	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
119S1	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
119S2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
119S3	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
120S1	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
120S2	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-
120S3	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
121S1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
121S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
121S3	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
122S1	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
122S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
122S3	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
123S1	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
123S2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
123S3	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
124S1	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
124S2	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
124S3	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+

*Sİ. Sülfat indirgenmesi.

Biyokimyasal test profilleri (IMViC ve temel testler) esas alınarak kırmızı renkle işaretlenen koloniler, olası *E. coli* suşları olarak değerlendirilmiştir.

Geriye kalan 91 koloni ise bu biyokimyasal profil ile uyumsuz sonuçlar sergilemiş; özellikle bazı örneklerde indol ve metil red testlerinin negatif sonuçlanması, bazı suşlarda sitrat kullanımının pozitif çıkması ya da katalaz aktivitesinin bulunmaması, söz konusu kolonilerin *E. coli* dışı enterik bakterilere ait olabileceğini düşündürmüştür.

Elde edilen bu veriler, IMViC testlerinin *E. coli*'nin ayırıcı tanısında etkili bir ilk basamak analizi olduğunu göstermektedir. Bu durum, benzer örnek tipleriyle yapılan önceki çalışmalarla da uyumludur. Örneğin, Çin'de çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının tamamına yakınında klasik (++--, IMViC) profili tespit edilmiş, biyokimyasal testlerin tanısal doğruluğunun yüksek olduğu bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2021). Mısır'da yürütülen bir başka çalışmada da süt ve süt ürünlerinden elde edilen *E. coli* suşlarının büyük kısmı klasik IMViC profiline sahip bulunmuş; bu testlerin özellikle kırsal üretim bölgelerinde hâlâ yaygın biçimde kullanıldığı belirtilmiştir (Ombarak ve diğerleri, 2016). Güney Afrika'da yapılan araştırmalarda ise IMViC testleriyle şüpheli suşların elenmesinin

ardından PZR doğrulaması yapılmış ve biyokimyasal testlerin önemli ölçüde zaman ve kaynak tasarrufu sağladığı vurgulanmıştır (Caine ve diğerleri, 2014).

Çalışmamızda IMViC pozitiflik oranı, süt örneklerinin yaklaşık % 64'ünü (47/73), izolatların ise % 55.8'ini (115/206) kapsamaktadır (Çizelge 4.2). Bu oranlar, çiğ süt ürünlerinde *E. coli* kontaminasyonunun hem yaygın hem de değişken bir mikrobiyolojik yapıya sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca IMViC negatif sonuç veren kolonilerin moleküler tanımlama öncesinde elenmesi, testin özgüllüğünü artırmakta ve yanlış pozitif tanı olasılığını azaltmaktadır.

Çizelge 4.2: IMViC testi sonucuna göre *E. coli* ile uyumlu (pozitif) ve uyumsuz (negatif) süt örneği ve koloni dağılımı.

	IMViC Pozitif	IMViC Negatif
Süt örneği sayısı	47	26
Koloni sayısı	115	91
Süt örneği	% 64.4	% 35.6
Koloni (%)	% 55.8	% 44.2

Sonuç olarak, IMViC testleri bu çalışmada ilk tarama ve ayırım aşamasında etkili bir yöntem olarak kullanılmış; *E. coli* tanısında biyokimyasal uyumsuzluk gösteren izolatların dışlanması ile spesifik tanıya katkı sağlanmıştır. Ancak elde edilen veriler, IMViC testlerinin sınırlılıklarını da göstermekte olup, moleküler doğrulama yöntemlerinin bu süreci tamamlayıcı nitelikte olduğu unutulmamalıdır.

Gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından değerlendirildiğinde, çiğ süt örneklerinde bu denli yüksek oranda *E. coli* varlığı, özellikle patojenik potansiyeli olan suşların tespiti açısından önemli bir risk unsuru oluşturmaktadır. Bu nedenle, biyokimyasal ön tarama testlerinin dikkatli yorumlanması ve moleküler düzeyde doğrulama ile desteklenmesi, gıda kaynaklı bulaşların önlenmesinde kritik öneme sahiptir (EFSA, 2015).

4.4 Antibiyogram Test Sonuçları

Antibiyotik direnci, halk sağlığı açısından ciddi tehditler oluşturan *E. coli* suşlarının değerlendirilmesinde kritik bir parametre olup, gıda kaynaklı izolatlarda antibiyogram testlerinin yapılması bu riskin ortaya konulması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu

çalışmada, biyokimyasal olarak *E. coli* olarak tanımlanan 115 izolatın çeşitli antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık profilleri belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Test edilen tüm *E. coli* izolatlarının tamamı sefalotin antibiyotiğine dirençli bulunmuştur. Diğer antibiyotikler açısından ise değişen oranlarda direnç gözlenmiştir. Direnç oranları sırasıyla: %0.86 (n=1) Amikasin, %3.47 (n=4) Sefuroksim, %6.08 (n=7) Ertapenem, %5.21 (n=6) Siprofloksasin, %6.08 (n=7) Amoksisilin, %6.08 (n=7) Gentamisin, %6.08 (n=7) Nalidiksik asit, %8.69 (n=10) Sülfametoksazol, %6.95 (n=8) Sefotaksim, %1.73 (n=2) Sefepim, %3.47 (n=4) Nitrofurantoin, %0 (n=0) Norfloksasin, %2.6 (n=3) Piperasilin ve %25.21 (n=29) Fosfomisin olarak belirlenmiştir.

Duyarlılık oranları incelendiğinde, izolatların büyük çoğunluğunun birçok antibiyotiğe karşı yüksek duyarlılık gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek duyarlılık oranları sırasıyla: %99.13 (n=114) Fosfomisin, %96.52 (n=111) Seftazidim ve Meropenem, %94.78 (n=109) Ampisilin, Amikasin ve Sefuroksim, %93.91 (n=108) Ertapenem ve Siprofloksasin, %93.04 (n=107) Amoksisilin ve Gentamisin, %91.3 (n=105) Nalidiksik asit ve Sülfametoksazol, %90.43 (n=104) Sefotaksim, %88.69 (n=102) Sefepim, %87.82 (n=101) Nitrofurantoin ve Norfloksasin, %86.95 (n=100) Piperasilin şeklinde gözlenmiştir. Bu veriler, izolatların önemli bir kısmının geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı halen duyarlı olduğunu göstermektedir. Çalışmada antibiyotiklere karşı genel duyarlılık düzeyinin yüksek olması (%86–99 arasında) önemli bir bulgudur ve bu sonuçlar, özellikle çiğ süt kaynaklı *E. coli* suşlarının birçok yaygın antibiyotikle hâlâ etkili bir şekilde tedavi edilebilir olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, direnç oranlarının literatürle karşılaştırılması, bölgesel farklılıkların altını çizmektedir. Örneğin, Jakobsen ve ark. (2010) tarafından bildirilen çalışmada, broiler kökenli *E. coli* izolatlarında ampisilin ve sülfametoksazol'a karşı daha yüksek direnç oranları rapor edilmiştir (Jakobsen ve diğerleri, 2010). Bu farklılık, coğrafi bölge, antibiyotik kullanım politikaları ve hayvancılık uygulamaları gibi değişkenlerle açıklanabilir.

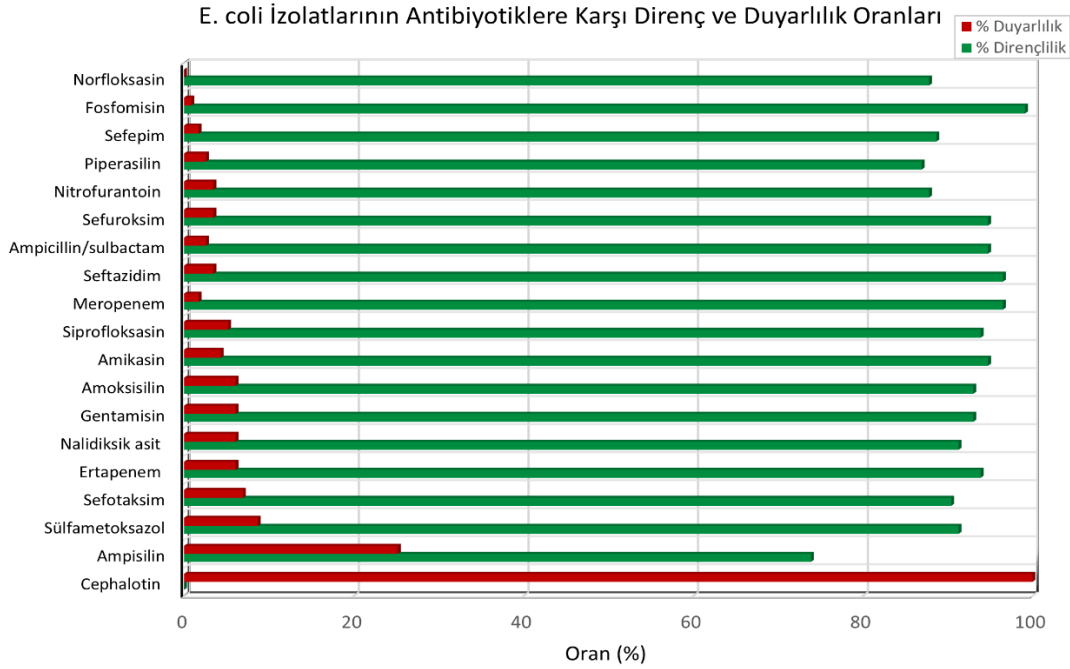
Çizelge 4.3: İzolatların çeşitli antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık profilleri.

Antibiyotik	Orta			Pozitiflik (%)*	Negatiflik (%)*
	Duyarlı	Duyarlı	Dirençli		
1.AMP (AM-10)	85	1	29	73,9	25,21
2.AMI (AK-30)	109	1	5	94,78	4,34
3.AMC (AMC-30)	107	1	7	93,04	6,08
4.ASB (SAM-20)	109	3	3	94,78	2,6
5.CPM (FEP-30)	102	1	2	88,69	1,73
6.CTX (CTX-80)	104	3	8	90,43	6,95
7.CAZ (CAZ-30)	111	0	4	96,52	3,47
8.CRX (CXM-30)	109	2	4	94,78	3,47
9.CFL (KF-30)	0	0	115	0	100
10.CIP (CIP-5)	108	1	6	93,91	5,21
11.ETP (ETP-10)	108	0	7	93,91	6,08
12.FOS (FF-200)	114	0	1	99,13	0,86
13.GEN (CN-10)	107	1	7	93,04	6,08
14.MER (MEM-10)	111	2	2	96,52	1,73
15.NAL (NA-30)	105	3	7	91,3	6,08
16.NIT (F-300)	101	0	4	87,82	3,47
17.NOR (NOR-10)	101	4	0	87,82	0
18.PPT (TPZ-110)	100	2	3	86,95	2,6
19.SUT (SXT-25)	105	0	10	91,3	8,69

*Pozitiflik oranı, ilgili antibiyotiğe karşı duyarlı ve orta duyarlı izolatların toplam yüzdesini; negatiflik oranı ise dirençli izolatların yüzdesini ifade etmektedir. Bu iki oran, antibiyotik etkinliğinin değerlendirilmesinde ve direnç dağılımının belirlenmesinde karşılaştırmalı analiz imkânı sunmaktadır.

Bu çalışmada antibiyotik duyarlılığı test edilen 115 *E. coli* izolatına ilişkin sonuçlar, tanımlayıcı istatistikler ve oran analizi yoluyla da değerlendirilmiştir (Şekil 4.2). Direnç oranları bakımından en yüksek oran %100 ile sefalotin antibiyotiğinde gözlenmiş, bunu % 25.21 ile fosfomisin takip etmiştir. Diğer antibiyotiklerdeki direnç oranları % 0–9 arasında değişmekte olup, genel olarak düşük düzeydedir. Fosfomisin antibiyotiği için hem yüksek direnç (% 25.21) hem de yüksek duyarlılık (% 73.9) değerlerinin birlikte raporlanması, izolatlar arasında heterojenite bulunduğunu düşündürmektedir. Özellikle sefalotine karşı %100 direnç, bu antibiyotiğin veteriner saha uygulamalarında yaygın ve kontrolsüz kullanımına işaret edebilir (El-Saeed ve diğerleri, 2024). Öte yandan fosfomisine karşı hem yüksek direnç (% 25.21) hem de yüksek duyarlılık (% 99.13) oranlarının birlikte raporlanması, olasılıkla test edilen izolatların alt gruplarındaki varyasyonları yansıtmaktadır. Sonuç olarak, elde edilen antibiyogram sonuçları çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli*

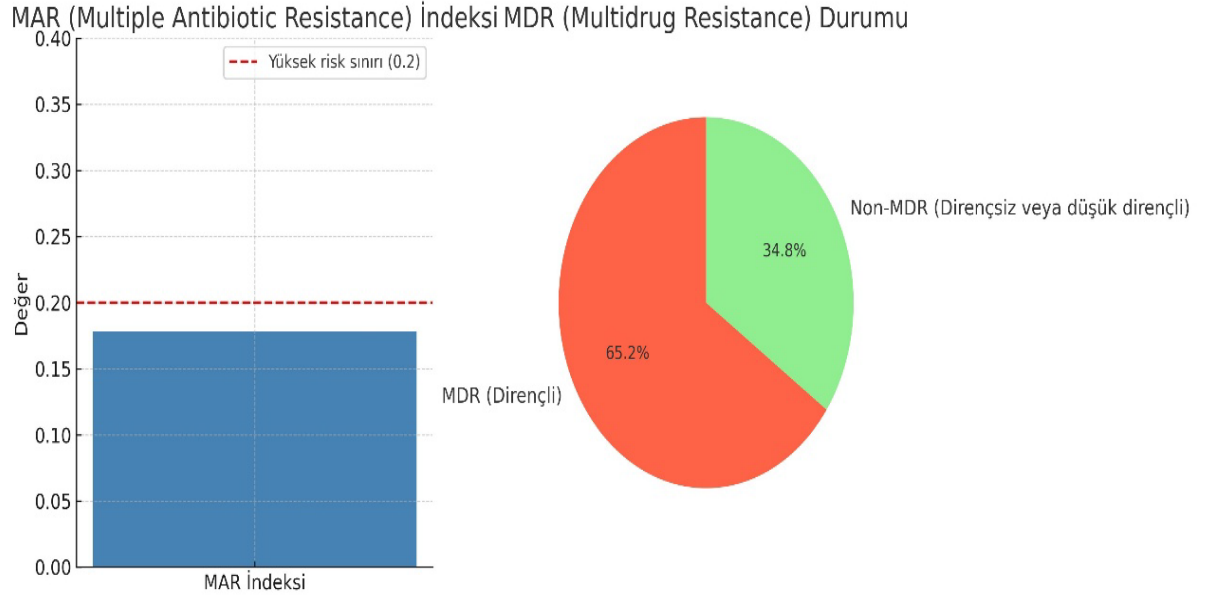
suşlarının bazı antibiyotiklere karşı dikkat çekici direnç profilleri sergilediğini ortaya koymakta ve bu bakterilerin potansiyel zoonotik risk taşıdığına işaret etmektedir. Antibiyotik direncinin izlenmesi ve kontrolü, özellikle gıda kaynaklı patojenler açısından halk sağlığının korunmasında kritik rol oynamaktadır.



Şekil 4.2: Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının farklı antibiyotiklere karşı direnç (kırmızı) ve duyarlılık (yeşil) oranları. Grafik, 19 farklı antibiyotik ajanına karşı test edilen 115 izolatın sonuçlarını göstermektedir.

Antibiyoqram sonuçlarının MAR (Multiple Antibiotic Resistance) İndeksi ve MDR (Multidrug Resistance) Durumu ileri analizlerine göre;

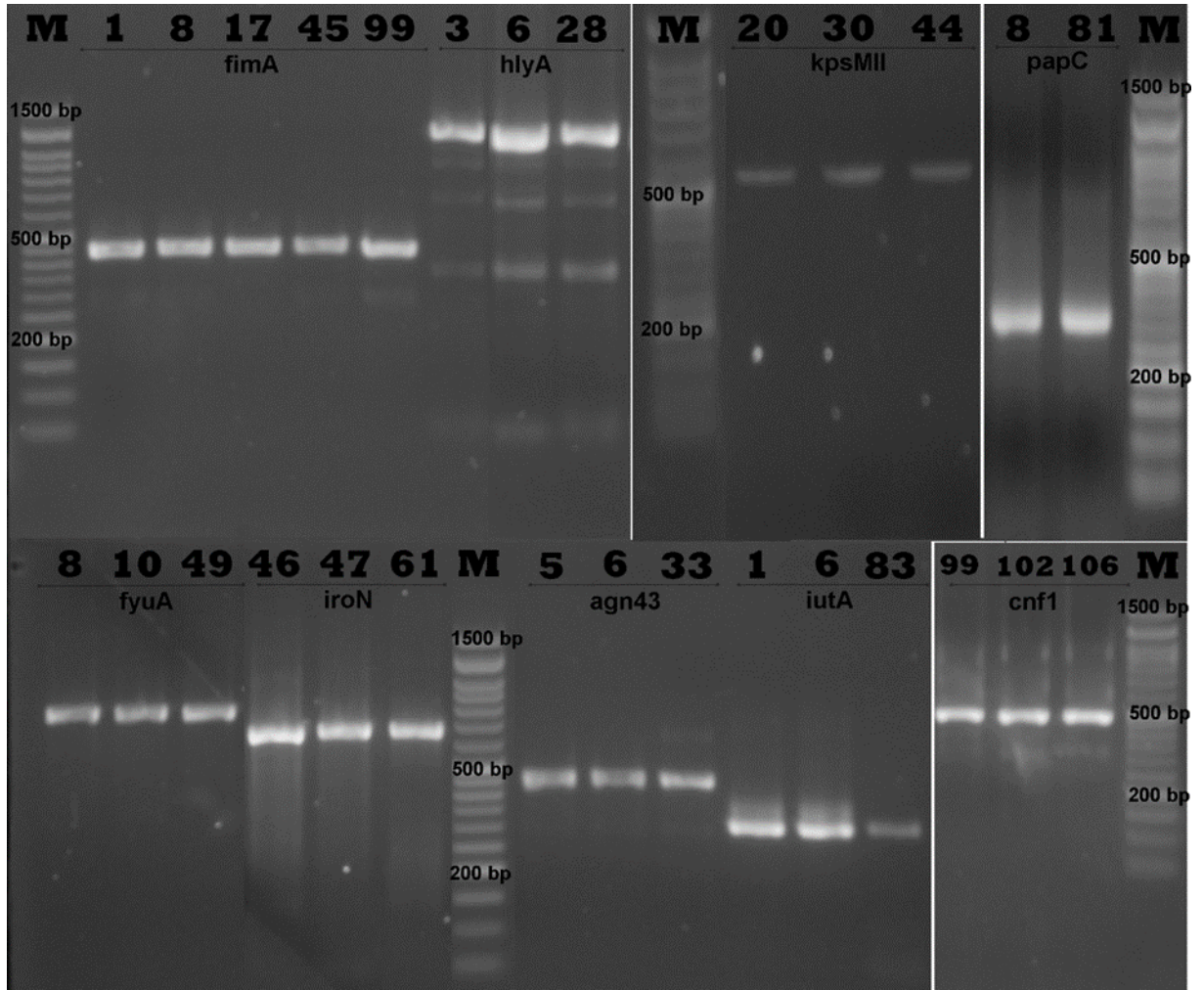
MAR indeksi 0.178 olup bu değer, izolatların test edilen antibiyotiklerin yaklaşık %17.8'ine dirençli olduğunu göstermektedir. MAR indeksi > 0.2 olan durumlar genellikle yüksek riskli kontaminasyon kaynaklarına işaret eder. Bu açıdan, hesaplanan değer sınır değerinin hemen altında yer almakta olup, orta düzeyde bir direnç baskısına işaret etmektedir. MDR izolat sayısı 75 olup MDR prevalansı %65.2'dir. Bu değer, test edilen 115 izolatın %65'inin en az 3 farklı antibiyotik sınıfına dirençli olduğunu göstermektedir. Bu oran, gıda kaynaklı bakteriler açısından oldukça dikkat çekicidir ve halk sağlığı açısından potansiyel risk taşıdığını göstermektedir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: İzolatlar için MAR indeksi ve MDR durumunun grafiksel sunumu.

4.5 UPEC Virülans Genlerinin PZR ile Tespiti

Bu çalışmada, *E. coli* izolatlarında bazı UPEC virülans faktörlerine ait gen bölgeleri PZR yöntemi ile amplifiye edilerek varlıkları değerlendirildi. Şekil 4.4'de yer alan jel görüntülerinde, pozitif amplifikasyon bantlarının varlığı, analiz edilen bazı *E. coli* izolatlarında ilgili virülans genlerinin bulunduğunu ortaya koymaktadır. Şekil 4.4, çalışmada pozitif sonuç veren izolatlar arasından seçilen temsili örneklerin PZR amplifikasyon ürünlerine ait jel görüntülerini içermektedir; tüm izolatlar için veriler gösterilmemiştir. Toplamda 10 farklı virülans genine yönelik analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen genler: *fimA*, *hlyA*, *kpsMII*, *papC*, *fyuA*, *iroN*, *agn43*, *iutA*, *cnsf*, *vat*.



Şekil 4.4: UPEC virülans genleri jel görüntüsü. Üst jelde *fimA* gen bölgesi için seçilen pozitif suşlar (1, 8, 17, 45 ve 99); *hlyA* için seçilen pozitif suşlar (3, 6 ve 28); *kpsMII* için seçilen pozitif suşlar (20, 30 ve 44); *papC* için seçilen pozitif suşlar (8 ve 81) ve alt jelde *fyuA* için seçilen pozitif suşlar (8, 10 ve 49); *iroN* için seçilen pozitif suşlar (46, 47 ve 61); *agn43* için seçilen pozitif suşlar (5, 6 ve 33); *iutA* için seçilen pozitif suşlar (1, 6 ve 83); *cnf1* için seçilen pozitif suşlar (99, 102 ve 106), M: Marker (50 bp DNA Ladder RTU (Ready-to-Use), GeneDireX, Taiwan)

Adhezin ve koloni oluşturma genleri arasında yer alan *fimA* ve *papC*, çalışmada pozitif saptanan genler arasında yer almıştır. *fimA*, tip 1 fimbriaların yapısal komponentlerinden biridir ve mesane epitel hücrelerine yapışmayı sağlayarak bakterinin enfeksiyon oluşturma kapasitesine katkı sunar. Literatürde bu genin UPEC suşlarında yaygın olarak bulunduğu ve alt üriner sistem enfeksiyonlarında önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Sarowska ve diğerleri, 2019). *papC* ise P fimbrialarının oluşumunda görev alan bir adhezin genidir ve özellikle piyelonefrit gibi üst üriner sistem enfeksiyonlarıyla ilişkilendirilmiştir (Johnson, 1991). Hemolizin üretiminden sorumlu olan *hlyA* geni, bazı suşlarda pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu gen, hücre membranını hedef alarak lizis oluşturan alfa-hemolizin üretimini

sağlar. Kapsül senteziyle ilişkili olan *kpsMII* geni, bakterinin fagositoza karşı direncini artıran kapsüler yapıların oluşumunda görev alır. Bu genin varlığı, özellikle immün yanıtı baskılayarak bakterinin konak savunma mekanizmalarından kaçmasına olanak tanır. Önceki çalışmalar, bu genin sepsis ve piyelonefrit gibi ağır klinik tablolarla ilişkili *E. coli* suşlarında daha sık bulunduğunu bildirmiştir (Roberts, 1996). Demir alımına aracılık eden siderofor genleri olan *fyuA*, *iroN* ve *iutA*, çalışmada tespit edilen diğer önemli virülans faktörlerindendir. Bu genler, bakterinin konak hücrelerdeki sınırlı demir kaynaklarını etkili şekilde kullanabilmesini sağlayarak, enfeksiyon sürecinde avantaj kazandırır. Literatürde UPEC suşlarında bu genlerin yüksek prevalansa sahip olduğu ve virülans kapasitesiyle güçlü bir ilişki gösterdiği belirtilmektedir (Johnson ve Stell, 2000). Ototransporter proteinlerinden sorumlu olan *agn43* geni, koloni morfolojisi, hücre adezyonu ve biyofilm oluşumu ile ilişkilidir. Bu genin bazı suşlarda pozitif bulunması, UPEC izolatlarının biyofilm oluşturma potansiyelini desteklemektedir (Zalewska-Piąte ve diğerleri, 2015). Sitotoksik nekrotizan faktör 1 (*cnfI*) geni, hücre içi aktin yapılarını etkileyerek epitel hücrelerin morfolojisini bozar ve bakteriyel invazyonu kolaylaştırır. Bu genin varlığı, genellikle daha ciddi ve invazif enfeksiyonlarla ilişkilidir. Önceki çalışmalar *cnfI* pozitifliğini %10-30 arasında bildirmiş olup, elde edilen bulgular bu aralığı desteklemektedir (Blanco ve diğerleri, 2004). Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, UPEC suşlarında birden fazla virülans geninin birlikte bulunabildiği, bu durumun bakterinin patojenik kapasitesini artırdığı ve klinik yansımaları olabileceği anlaşılmaktadır. Çalışma kapsamında değerlendirilen izolatların hiç birinde (%0) *vat* (*vacuolating autotransporter toxin*) genine yönelik pozitif PZR amplifikasyonu saptanmamıştır.

4.6 UPEC Virölans Gen Sonuçları

Çalışmada 47 farklı süt örneklerinden izole edilen 69 adet *E. coli* genomik DNA'sı UPEC ile ilişkili 10 farklı virölans gen (*fimA*, *fyuA*, *hlyA*, *papC*, *cnf1*, *iroN*, *kpsMII*, *agn43*, *iutA*, *vat*) açısından PZR yöntemiyle analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'de sunulmuştur.

Çizelge 4.4: İzolatlarda virölans ilişkili genlerin niteliksel sonuçları

Strains	<i>fimA</i> **	<i>fyuA</i>	<i>hlyA</i>	<i>papC</i>	<i>cnf1</i>	<i>iroN</i>	<i>kpsMII</i>	<i>agn43</i>	<i>iutA</i>	<i>vat</i>
1/3S*	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
3 ^a /5S1 ^b	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4/5S2	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
5/7S1	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-
6/7S2	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-
8/9S	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
10/10S	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
13/11S1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
14/11S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
15/15S	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
17/16S1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
19/16S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
20/19S1	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
22/19S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
23/20S1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
25/20S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
26/23S	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
28/24S	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
29/26S2	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
30/26S3	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-
31/37S1	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
33/37S3	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
34/38S1	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
36/38S3	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
39/48S	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
44/56S	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
45/57S	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
46/58S1	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
47/58S2	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
48/59S2	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-
49/62S1	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
51/62S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
52/66S	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
54/68S	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
58/70S2	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
59/70S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
60/72S1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
61/72S2	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
63/73S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66/75S1	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-
67/75S2	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-

69/76S1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
70/76S2	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
73/77S	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
75/80S	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
81/90S1	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
83/90S3	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
84/94S1	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
86/94S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
87/96S1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
88/96S2	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
90/97S1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
91/97S2	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
93/102S	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
96/103S1	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
97/103S2	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
98/103S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
99/105S1	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
101/105S3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
102/106S	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
105/107S1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
106/107S3	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
107/108S	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
108/109S	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
109/110S1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
110/110S2	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
112/111S	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
113/112S1	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
114/112S2	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-

*Kırmızı renkli, *E. coli* suşları potansiyel UPEC olarak tanımlanmıştır.

**Aynı gruba dahil olan virülans genleri ortak bir renkle boyanmıştır.

^a İzolatlara UPEC virülans gen analizi sırasında verilen numaralar

^b “5S1”, Süt örneğinin numarası (5. Süt örneğinden alınan 1. Koloni)

Virülans gen analizinde en yaygın olarak tespit edilen gen *fimA* olmuştur (Çizelge 4.5). Bu gen bir izolat hariç 68 (% 98.55) izolatların tamamında pozitif saptanmıştır. Tip 1 fimbriaları kodlayan *fimA*, mesane epitel hücrelerine tutunmayı sağlayarak enfeksiyonun başlangıcında önemli rol oynamaktadır. Bu bulgu, literatürde bildirilen %80-100 prevalans aralığıyla uyumludur (Ejrnæs ve diğerleri, 2011; Johnson ve Russo, 2005). Diğer sık tespit edilen genler arasında *agn43* (%95.65), *fyuA* (% 31.88) ve *iutA* (% 26.09) yer almaktadır. *agn43*, bakteriyel agregasyon ve biyofilm oluşumunu desteklemektedir (De Luna ve diğerleri, 2008). *iutA* aerobactin sistemi aracılığıyla konakta demir kazanımı sağlarken *fyuA* yersiniabaktin siderofor sisteminin bir parçası olup, UPEC’in konak ortamında demir kazanma kabiliyetini artırarak, özellikle inflamasyon ortamında büyümesini kolaylaştırmaktadır. Literatürde bu genin UPEC suşlarında %40-70 oranında bulunduğu raporlanmıştır (Habibi ve diğerleri, 2017; Zangane Matin ve diğerleri 2021).

Çalışmamızdaki oran bu aralıkla uyumlu olup, süt kaynaklı *E. coli* izolatlarının önemli bir kısmının demir alım sistemleri üzerinden potansiyel patojenite taşıyabileceğini göstermektedir. Ayrıca *fyuA*'nın *iutA*, *iroN* gibi diğer siderofor genleriyle birlikte bulunduğu izolatlar, daha kompleks demir alım stratejilerine sahip olabilmektedir (Rahmani ve diğerleri, 2020).

Çizelge 4.5: İzolatlarda UPEC virülans genlerinin saptanma oranı yüzdeleri

Virülans Geni	Pozitif İzolat Sayısı	İzolatlarda Saptanma Sıklığı (%)
<i>fimA</i>	68	98.55
<i>fyuA</i>	22	31.88
<i>hlyA</i>	18	26.09
<i>papC</i>	2	2.90
<i>cnfI</i>	3	4.35
<i>iroN</i>	6	8.70
<i>kpsMIII</i>	8	11.59
<i>agn43</i>	66	95.65
<i>iutA</i>	18	26.09
<i>vat</i>	0	0.00

Diğer virülans genlerinden *hlyA* ise 18 izolatta pozitif bulunmuştur. *hlyA* hemolizin üretiminden sorumlu olup, konak hücrelere doğrudan toksik etki gösterebilir (Yasmeen ve diğerleri, 2009). Literatürde UPEC suşlarında *hlyA* prevalansı %21–47 arasında bildirilmiştir (Radera ve diğerleri, 2022; Shah ve diğerleri, 2019; Stanley ve diğerleri, 1998). Bu çalışmada elde edilen dağılım yüzdesi bu oranla uyumludur. Ancak *papC* (n=2) gibi P fimbria kodlayan genin düşük görülmesi, izolatların üst üriner sistem enfeksiyonlarında rol alma ihtimalinin düşük olduğunu düşündürmektedir (Whelan ve diğerleri, 2023). *cnfI* ve *iroN* gibi diğer bazı virülans genleri de sınırlı sayıda izolatta tespit edilmiştir. *Vat* geni ise hiçbir izolatta tespit edilmemiştir. *vat* geni, UPEC suşlarında vaküolleştirici toksin üretiminden sorumlu olup, epitel hücrelerde vakuol oluşumu ve hücre hasarına neden olarak patogeneizde rol oynayabilmektedir. Bununla birlikte, bu genin dağılımı UPEC izolatları arasında oldukça değişkenlik göstermektedir. Bazı çalışmalarda *vat* pozitiflik oranı %10–30 arasında rapor edilmekle birlikte (Apostolou ve diğerleri, 2001; Lucero ve diğerleri, 2005), diğer çalışmalarda bu genin nadir görüldüğü veya hiç saptanmadığı da bildirilmektedir (Nichols ve diğerleri, 2016; Parham ve diğerleri, 2005). Bu bağlamda, çalışmamızda *vat* geninin hiçbir izolatta tespit edilmemiş olması, bu virülans faktörünün UPEC suşları

arasında sınırlı bir yaygınlığa sahip olabileceğini veya çalışmamızdaki izolat grubunun bu özelliği taşımayan bir genotipe ait olabileceğini düşündürmektedir.

Virülans gen kombinasyonları incelendiğinde, en fazla altı farklı gen taşıyan izolatların (örneğin 5., 6., ve 48. izolat) bulunduğu görülmüştür. Bu izolatlarda sıklıkla *fimA*, *agn43*, *iutA* ve *iroN* gibi yapışma ve demir alımına ilişkin genlerin birlikte yer aldığı saptanmıştır. Genel olarak izolatların çoğunluğu 2-4 arasında virülans geni taşımaktadır. UPEC tanımlaması için yaygın olarak kullanılan kriterlerden biri, en az üç farklı virülans genine sahip olma durumudur (Brons ve diğerleri, 2020; Pourzare ve diğerleri, 2017).

UPEC suşları, sahip oldukları patojenite adacıklarında (PAI – pathogenicity islands) yer alan özgül genlerin farklı düzeylerde bulunması ya da hiç bulunmaması nedeniyle yüksek düzeyde genetik çeşitlilik göstermektedir (Oelschlaeger ve diğerleri, 2002). UPEC suşlarının hızlı ve doğru tanımlanmasına yönelik geliştirilebilecek moleküler temelli tanı sistemlerinde kullanılabilecek aday genler temel olarak iki ana gruba ayrılmaktadır: (1) bakteri hücre yüzeyinde bulunan virülans faktörlerini kodlayan genler ve (2) konak hücre ile etkileşim bölgesine salgılanarak taşınan virülans faktörlerini kodlayan genler (Emody ve diğerleri, 2003). Bu iki grup altında sınıflandırılacak başlıca virülans genleri şunlardır:

- (i) Tip 1, P ve S/F1C tipi fimbrial adezinleri kodlayan genler,
- (ii) Sitotoksik nekrotizan faktör 1 (CNF1), α -hemolizin ve oto-transporter yoluyla salgılanan toksinleri kodlayan genler,
- (iii) Kapsül yapısı veya O-spesifik antijen gibi konak savunma mekanizmalarından kaçışı sağlayan yapılara ait genler,
- (iv) Aerobaktin, enterobaktin, salmokelin ve yersiniabaktin gibi demir alım sistemlerini kodlayan genler (Lloyd ve diğerleri, 2007). Bu genetik özellikler, UPEC suşlarının patojenik potansiyellerinin belirlenmesinde ve klinik örneklerde doğru tanımlanmasında önemli biyobelirteçler olarak değerlendirilmektedir.

Yukarıdaki sınıflandırma kapsamında tanımlanan virülans genlerinden üç veya daha fazla farklı tiptekini taşıyan *E. coli* suşları potansiyel UPEC olarak sınıflandırılabilir (Rezatofighi ve diğerleri, 2021). Derakhshan vd., (2006) bu eşik değerin UPEC tanımlamada hem duyarlılığı hem özgüllüğü artırdığını belirtmiştir (Derakhshan ve diğerleri, 2022). Abe ve arkadaşlarının (2008) yaptığı çalışmanın sonucunda, tipik UPEC virülans genleri (*pap*, *sfa*, *afa*, *hly* ve *cnf*) 12 serotipten 11'ine ait suşlarda tespit edilmiştir (Abe ve diğerleri, 2008).

Böylece, serogruplara ait suşların %81,6'sı *pap*, *sfa*, *afa*, *hly* ve/veya *cnf* genlerine sahip olduğu için UPEC olduğu belirtilmiştir.

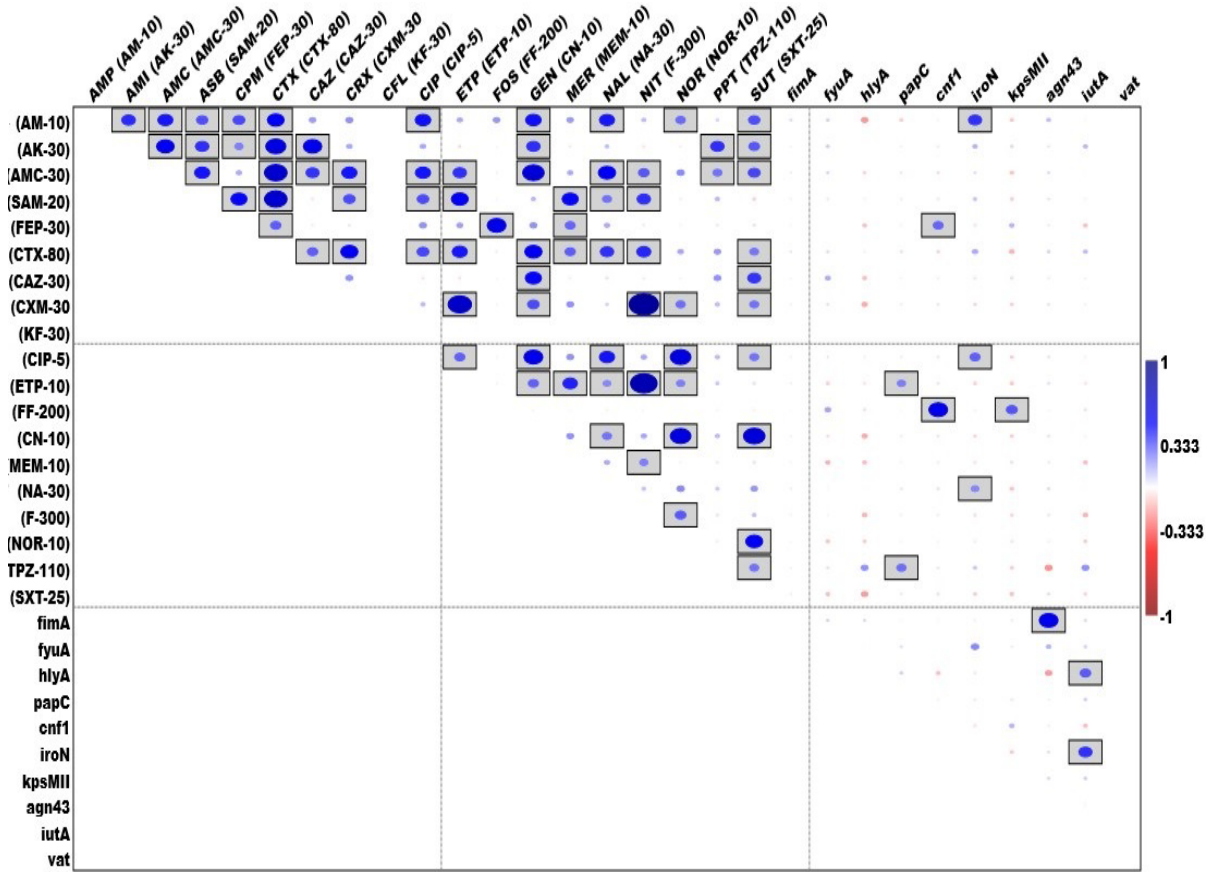
Benzer şekilde Spurbeck ve arkadaşları (2012) da UPEC tanımlamasında yapışma, toksisite ve demir alımı gibi temel patojenite işlevlerine karşılık gelen gen kümelerinin bir arada bulunmasının ayırt edici olduğunu vurgulamıştır (Spurbeck ve diğerleri, 2012). Bu çalışmada 69 izolatın 43 adeti (% 62.31) bu tanıma karşılama ve potansiyel UPEC olarak değerlendirilebilmektedir. UPEC suşları tarafından adezinler, sideroforlar ve çeşitli toksinlerin kodlandığı virülans faktörlerinin sentezlenmesi; çevresel stres koşullarına adaptasyon yeteneği ve konak bağışıklık yanıtından kaçınma mekanizmaları sayesinde, bu bakterilerin üriner sistemi enfekte edip burada çoğalmasına olanak tanır (Flores-Mireles ve diğerleri, 2015).

Spurbeck ve arkadaşları (2012), *vat*, *fyuA*, *chuA* ve *yfcV* gibi bazı virülans genlerinin varlığının, UPEC suşlarının üriner sistemde başarılı kolonizasyon yetisi ile anlamlı biçimde korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle, bu genlerden ≥ 3 'ünün varlığı UPEC statüsünün göstergesi olarak kabul edilmektedir (García ve diğerleri, 2023; Spurbeck ve diğerleri, 2012). Dolayısıyla, söz konusu genlerin en az üçünün aynı izolat üzerinde saptanması, bakterinin UPEC olarak sınıflandırılması için güvenilir bir moleküler belirteç olarak değerlendirilmektedir. Bu açıdan ele aldığımızda UPEC olarak suşları tanımlayabilmek için üç veya daha fazla farklı gruptan (adezinler, toksinler, demir edinim sistemleri, biyofilm oluşumu, kapsül oluşturma vs.) virülans genler taşıyan *E. coli* suşları potansiyel UPEC olarak bu çalışmada tanımlanmıştır. UPEC fenotipi taşıdığı belirlenen izolatların *E. coli* türüne ait olduğu 16S rRNA gen dizileme analizleriyle doğrulanmıştır.

Ancak, çalışmamızdaki izolatların süt örneklerinden elde edilmesi, insan kaynaklı klasik UPEC suşlarına kıyasla genetik profil açısından bazı farklılık gösterebilmektedir. Bu bulgular, süt kaynaklı *E. coli* suşlarının zoonotik potansiyel taşıyabileceğini düşündürmekle birlikte, patojenite düzeylerinin değerlendirilmesinde yalnızca genetik verilerle sınırlı kalmamak; fenotipik testler, konak-hücre etkileşim modelleri ve antibiyotik duyarlılık analizleriyle desteklenme gerekliliğini ortaya koymaktadır.

4.7 Antibiyogram ve UPEC ile İlişkili Genler Arasındaki Korelasyon Analizi

Antibiyogram analizlerinin yanı sıra UPEC ile ilgili gen taramaları yapılan 69 adet muhtemel *E. coli* suşuna ait istatistiksel analiz Past 4.03 istatistiksel analiz programında yapılmıştır. Bunun için suşların dirençlilik ve orta duyarlılık durumları '1', duyarlılıkları ise '0' olarak belirtilmiştir. Buna ek olarak, PZR taramalarında ilgili gen bölgelerinin varlığı yine '1' yoklukları ise '0' olarak değerlendirilerek analiz gerçekleştirilmiştir. Analizde Pearson korelasyonu uygulanmış, anlamlılık seviyeleri $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.



Şekil 4.5: Antibiyogram ve UPEC ile ilişkili genler arasındaki Pearson korelasyon ilişkisini gösteren grafik. Kutucuklar $p < 0.05$ anlamlılık seviyesini göstermektedir. Kırmızı noktalar negatif korelasyonu ifade ederken mavi noktalar pozitif korelasyonu göstermekte (noktaların boyutları korelasyonun büyüklük veya küçüklüğünü ifade etmektedir).

Test edilen 69 adet suşun antibiyogram ve UPEC için taranan genler arasındaki Pearson korelasyon ilişkisi incelendiğinde (Şekil 4.5) birçok antibiyotiğin kendi aralarında $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde pozitif korelasyon gösterdiği görülmektedir.

Antibiyotikler ile UPEC ilişkili genler arasındaki ilişkiye bakıldığında, *fimA*, *fyuA*, *hlyA*, *agn43*, *iutA* ve *vat* genleri ile herhangi bir antibiyotik arasında anlamlı ilişkinin olmadığı saptandı. Korelasyon açısından da bu gen bölgeleri ile antibiyotikler arasında çok düşük

negatif ya da pozitif ilişkinin olduğu gözlemlendi. *papC* ile iki antibiyotiğin (ETP-10 ve TPZ-110), *cnfI* ile 2 antibiyotiğin (FEB-30 ve FF-200), *iroN* ile 3 antibiyotiğin (AM-10, CIP-5 ve NA-30) ve son olarak *kpsMIII* ile 1 antibiyotiğin (FF-200) $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde pozitif korelasyona sahip oldukları tespit edilmiştir. Ek olarak, *fimA* ile *agn43* ayrıca *hlyA* ve *iroN* ile *iutA* arasında $p < 0.05$ anlamlılık seviyesinde pozitif korelasyon olduğu görüldü.

4.8 Antibiyotikler Arasındaki Korelasyonların Analizi

Özellikle halk sağlığı açısından dikkate değer bazı sonuçlar ortaya çıkmıştır:

1- Beta-laktamlar ve geniş spektrum beta-laktamazlar

- AMP ile AMC ve CTX gibi antibiyotikler arasında güçlü pozitif korelasyonlar gözlenmektedir (koyu mavi elipsler). Bu veriye göre her üç antibiyotiğin genellikle aynı direnç mekanizmasına (örneğin beta-laktamaz üretimi) maruz kaldığını ve çapraz direnç oluşturdıkları tahmin edilmektedir. Hastalardan alınan idrar örneklerindeki Enterobacteriaceae izolatlarının % 8'nin AMP, AMC ve CTX antibiyotiklerine dirençli olduğu tespit edilmiştir (Alshabbani, 2022).

2- Kinolonlar ve florokinolonlar

- CIP, NAL ve NOR arasında belirgin pozitif korelasyonlar bulunmaktadır. Bu da kinolonlar arasında sıkça görülen çapraz direnç ve ortak hedeflerin (örneğin DNA giraz enzimi) etkili olduğunu göstermektedir. DNA giraz, yalnızca prokaryotlarda bulunan ve bakteriyel çoğalma için hayati öneme sahip bir enzim olduğundan, kinolon grubu antibiyotikler için ideal bir hedef olarak kabul edilmektedir (Fàbrega ve diğerleri, 2009). Bu enzim, *gyrA* ve *gyrB* olarak adlandırılan iki alt birimden oluşan tetramerik bir yapıya sahiptir (Lee ve diğerleri, 2005). Florokinolonlara karşı gelişen dirençte en sık rastlanan mutasyonlar, bu alt birimlerin kodladığı bölgelerde, özellikle de kinolon direnç belirleyici bölgede (QRDR) meydana gelir. *E. coli*'de, *gyrA* geninde ortaya çıkan mutasyonlar nalidiksik asit direncini önemli ölçüde artırabilirken, ek olarak *gyrA* veya topoizomera IV gen bölgelerinde oluşan diğer mutasyonlar, florokinolonlara karşı yüksek düzeyde direnç gelişimine yol açmaktadır. Söz konusu yüksek direnç düzeyi, *gyrA* kodonunda serin amino asidinin lösinle yer değiştirmesi sonucu oluşur ve bu değişiklik, *E. coli* izolatlarında hem nalidiksik asit hem de diğer florokinolonlara karşı güçlü bir direnç fenotipiyle ilişkilendirilmiştir (Hopkins ve diğerleri, 2005). Kinolon direnci, tedavi sürecini

olumsuz yönde etkileyebilmekte ve direnç genlerinin yatay gen transferiyle yayılabilir olması enfeksiyon hastalıklarının kontrolünü daha karmaşık hale getirebilmektedir. Bu genetik değişimlerin, mikrobiyal çeşitliliğin ve biyolojik etkileşimin yoğun olduğu ortamlarda daha sık görüldüğü bildirilmektedir. Süt üretim alanları, hem insan hem de hayvan kaynaklı mikroorganizmaların yoğun bulunduğu yerler olup, bu ortamlarda süt aracılığıyla patojen geçişi oldukça yaygındır. Bu nedenle, süt hijyeninin sağlanması halk sağlığı açısından kritik öneme sahiptir.

3- Aminoglikozidler

- GEN ve KAN gibi aminoglikozidler arasında da pozitif korelasyonlar saptanmıştır. Ortak hedefleri olan protein sentezini baskılamaları nedeniyle bu korelasyonların güçlü olması beklenmektedir. Her ne kadar antibiyotik direnci doğrudan bir virülans faktörü olarak değerlendirilmese de belirli biyolojik ve klinik koşullar altında enfeksiyonun oluşumu ve seyri üzerinde belirleyici etkiler gösterebilmektedir. Özellikle antibiyotiğe dirençli bir bakteriyel suşun, konakçının belirli anatomik bölgelerini etkili şekilde kolonize edebilme yeteneği, patojenitenin artmasına ve tedavi başarısızlıklarına yol açabilmektedir (Beceiro ve diğerleri, 2013). Bu bağlamda, antibiyotik direnci ve virülans, enfeksiyon dinamikleri açısından birbirinden tamamen bağımsız iki olgu olmaktan ziyade, etkileşim halinde olan kompleks özelliklerdir. Nitekim bu iki fenotipin; bakterinin türüne, sahip olduğu direnç ve virülans mekanizmalarının doğasına, yerleştiği ekolojik nişe, konağın bağışıklık durumu gibi çevresel ve konakçıya ait değişkenlere bağlı olarak farklı şekillerde ilişkilendiği gösterilmiştir (Cepas ve Soto, 2020)

Virülans ve direnç özelliklerinin zaman içerisinde farklı evrelerde ortaya çıkabilmesi, bu etkileşimin dinamik bir süreç olduğunu ve enfeksiyonun patogenezi ile tedaviye yanıtı doğrudan etkileyebileceğini göstermektedir. Bu nedenle, her iki özelliğin birlikte değerlendirilmesi, enfeksiyonların anlaşılmasında ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde kritik bir öneme sahiptir.

4.9 Virülans Genleri Arasındaki Korelasyon Analizi

UPEC suşlarının başlıca virülans faktörleri iki gruba ayrılabilir bunlar: salgılanan ve hücre yüzeyi virülans faktörleri (Shah ve diğerleri, 2019). Yüzey virülans faktörleri esas olarak bakterilerin konak hücrelere bağlanmasında rol oynayan adhezinleri ve fimbriaları içerir, ancak kamçı, kapsüller, dış zar proteinleri ve lipopolisakkaritler diğer yüzey virülans

faktörleridir (Shah ve diğerleri, 2019). Sideroforlar ve toksinler önemli salgısal virülans faktörlerine örnektir ve invazyon, biyofilm oluşumu ve sitokin üretiminin indüklenmesi UPEC patogeneğinde önemli rol oynayan faktörler arasındadır (Shah ve diğerleri, 2019). Bu açıklamalar doğrultusunda verilerimiz göz önünde bulundurulduğunda, *fimA*, *papC* ve *agn43* gibi yapışma faktörü genleri arasında anlamlı pozitif korelasyonlar dikkat çekmektedir. Bu genler genellikle üropatojenik *E. coli* suşlarında sıkça birlikte bulunur ve enfektiviteyi artırır.

4.10 Antibiyotik Direnci ile Virülans Genleri Korelasyonu Analizi

Bu çalışmada, antibiyotik direnç profilleri ile UPEC suşlarında tanımlanan bazı önemli virülans genleri arasındaki ilişkiler incelenmiş ve çok güçlü pozitif korelasyonlar saptanmıştır ($r > 0.8$). Elde edilen korelasyon katsayıları, bazı virülans faktörlerinin, direnç genleri ile aynı mobil genetik elementler (örneğin plazmidler, transpozonlar) üzerinde birlikte taşındığını ve ko-seleksiyon yoluyla birlikte yayıldığını düşündürmektedir.

Amikasin (AK) ile *hlyA* ve *cnfI* genleri arasındaki korelasyon, sırasıyla $r = 0.939$ ve $r = 0.878$ olarak saptanmıştır. *hlyA*, hemolizin A kodlayan bir gen olup epitel hücreleri ve lökositler üzerinde sitolitik etkiler göstererek böbrek hasarına neden olabilmektedir (Snyder ve diğerleri, 2004). *cnfI* ise, konak hücre iskeletini hedef alarak epitel hücre invazyonunu kolaylaştırır ve sepsis gibi ağır klinik tablolara neden olabilmektedir (Johnson ve Stell, 2000). Bu virülans genlerinin, aminoglikozid direnciyle birlikte görülmesi; UPEC suşlarının invaziv potansiyel ile birlikte direnç kazanma eğilimini göstermektedir.

Sefepim (FEP) ve sefuroksim (CXM) ile *cnfI* arasındaki korelasyonlar, sırasıyla $r = 0.944$ ve $r = 0.946$ düzeyinde olup, bu iki antibiyotiğe karşı dirençli suşların *cnfI* genini yüksek oranda taşıdığı gösterilmiştir. Bu durum, ESBL veya AmpC beta-laktamaz üretimi ile açıklanabilir; zira geniş spektrumlu sefalosporin direnci sıklıkla bu mekanizmalarla ilişkilidir (Lee ve diğerleri, 2005; McNally ve diğerleri, 2016).

Cephalotin (KF) ile siderofor sisteminin önemli bir bileşeni olan *iroN* arasında da yüksek bir korelasyon ($r = 0.872$) tespit edilmiştir. *iroN*, demir sınırlı ortamlarda hayatta kalmayı sağlayarak bakteriyel fitnessı artırır ve enfeksiyonun in vivo başarısını destekler (Johnson ve Russo, 2005). Bu korelasyon, demir metabolizmasındaki avantajın, direnç genlerinin taşınmasıyla eş zamanlı olarak kazanılabileceğini düşündürmektedir.

Piperasillin (TPZ) ile kapsül biyosentezinde görevli *kpsMII* geni arasında saptanan korelasyon katsayısı ise $r = 0.975$ olup, bu çalışmada elde edilen en güçlü ilişkidir. Kapsül oluşumu, fagositozdan kaçış ve antibiyotik penetrasyonunun engellenmesi gibi avantajlar sağlayarak patojenin konak savunmasından korunmasına olanak tanır. *kpsMII* geninin, özellikle K1 ve K5 gibi kapsül serotiplerini kodladığı ve neonatal menenjit gibi ciddi UPEC enfeksiyonlarında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Aldawood ve Roberts, 2022).

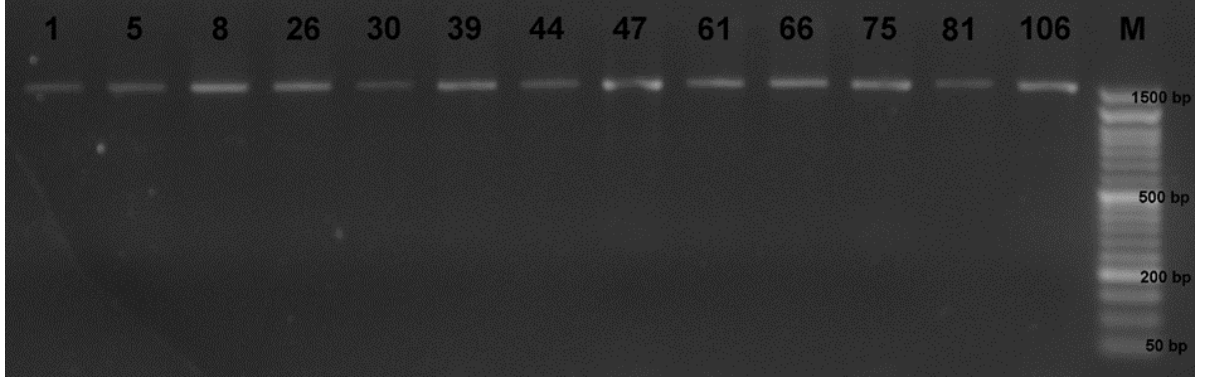
Karbapenem grubu antibiyotiklerden meropenem (MEM) ile *iroN* arasında da güçlü bir ilişki ($r = 0.805$) gözlemlenmiştir. Karbapenem direnci, sıklıkla karbapenemaz üretimi veya porin değişiklikleri ile ilişkilidir ve bazı çalışmalarda *iroN*'un, bu direnç genleriyle aynı plazmidler üzerinde taşındığı raporlanmıştır (McNally ve diğerleri, 2016).

Florokinolonlardan norfloksasin (NOR) ile *iroN* arasındaki korelasyon ($r = 0.901$) ise, demir metabolizmasına dair genlerin antibiyotik hedefi olan DNA giraz/topoizomera IV mutasyonları ile ilişkili olarak direnç kazanımıyla birlikte bulunabileceğine işaret etmektedir. Yamane vd. (2012), florokinolon dirençli UPEC suşlarında siderofor sistemlerinin aşırı ekspresyon gösterdiğini ve bu durumun enfeksiyonun başarısını artırdığını belirtmiştir (Su ve diğerleri, 2016).

Elde edilen bulgular, UPEC suşlarında antibiyotik direnç profili ile belirli virülans genleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve biyolojik olarak açıklanabilir ilişkilerin bulunduğunu göstermektedir. Özellikle *cnf1*, *hlyA*, *iroN* ve *kpsMII* gibi genlerin, direnç profili yüksek suşlarda baskın olarak görülmesi, bu patojenlerin hem tedaviye dirençli hem de invaziv özellikleri bir arada taşıdığı anlamına gelmektedir. Bu durum, hastane enfeksiyonları açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır ve antimikrobiyal tedavi stratejilerinin belirlenmesinde dikkate alınmalıdır.

4.11 16S rRNA PZR Analizi Sonuçları

Potansiyel *E. coli* izolatlarına ait genomik DNA örneklerinden 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu gerçekleştirilmiş ve amplifikasyon ürünleri %1.5 agaroz jel elektroforezi ile analiz edilmiştir. Şekil 4.6'da görüldüğü üzere, her bir örneğe ait kuyucukta yaklaşık 1.500 bp büyüklüğünde, yoğun ve tekil bantların elde edildiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, kullanılan evrensel primer setleri ile hedeflenen 16S rRNA gen bölgesinin özgül olarak çoğaltıldığını ve PZR reaksiyonlarının teknik açıdan başarılı olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 4.6: 16S rRNA gen bölgesi PZR amplikonları agaroz jel görüntüsü için seçilen suşlar, M: Marker (50 bp DNA Ladder RTU (Ready-to-Use), GeneDireX, Taiwan).

16S rRNA geni, bakteriyel tür tayininde yaygın olarak kullanılan evrimsel olarak korunmuş bir bölgedir. Bu genin amplifikasyonu, bakterilerin moleküler düzeyde tanımlanmasına olanak tanır ve filogenetik analizlerde önemli bir yer tutar. 16S rRNA geninin belirli bölgeleri yüksek derecede korunmuş olup tüm bakteriler arasında benzerlik gösterirken, bazı hiperdeğişken bölgeler türler arası ayrımı mümkün kılmaktadır. Bu nedenle, çalışmada kullanılan primerler, hem geniş kapsamlı amplifikasyon sağlayacak hem de tür düzeyinde ayırım yapılmasına elverişli olacak şekildedir.

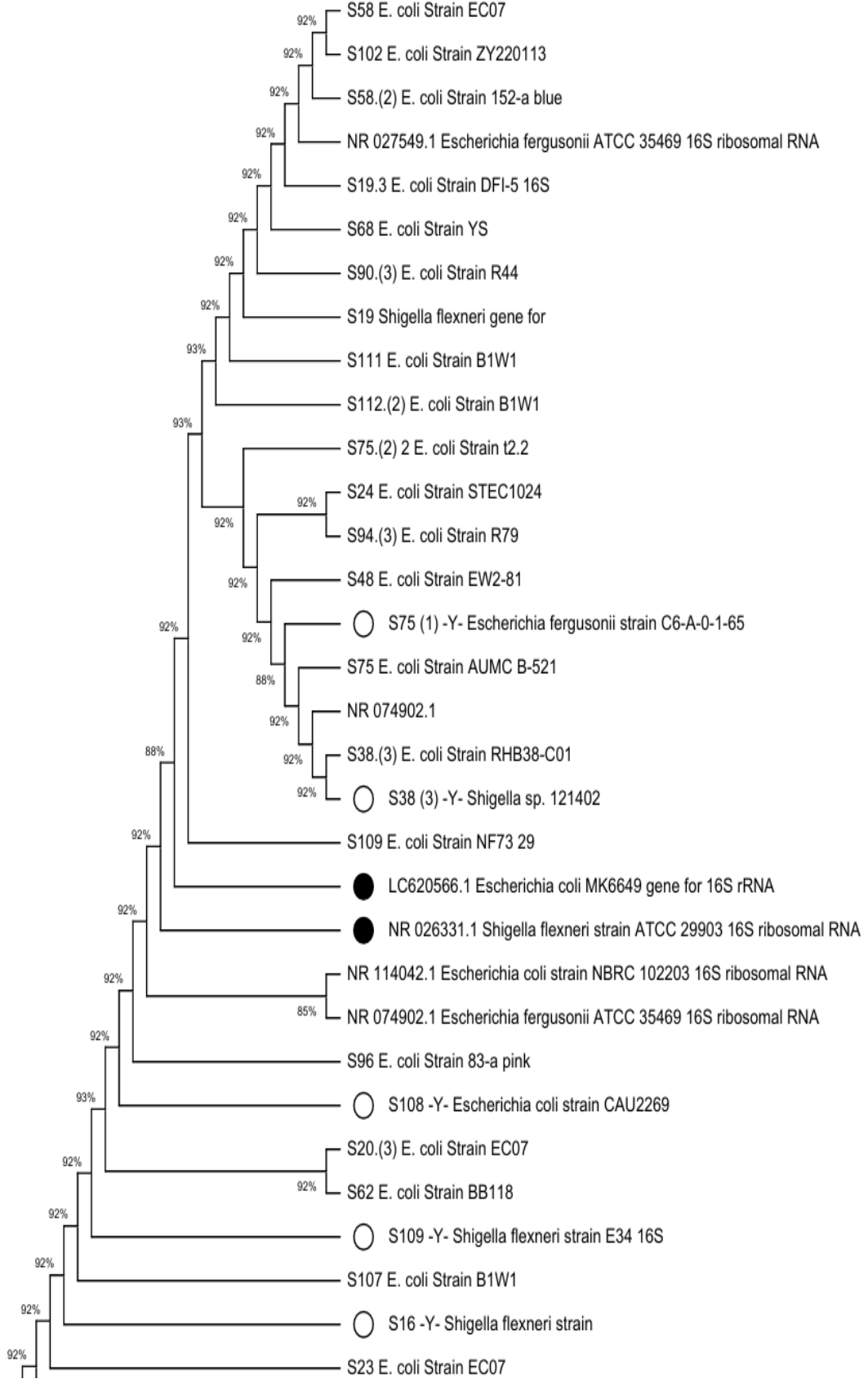
Literatürde benzer çalışmalarda da 16S rRNA geninin yaklaşık 1.500 bp'lik bölgesinin başarıyla amplifiye edildiği ve bu bölgenin filogenetik analizlerde güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Chakravorty ve diğerleri, 2007; Janda ve Abbott, 2007). Bu bağlamda, elde edilen PZR sonuçları literatürle uyumlu olup, izolatların *E. coli* olabileceğine işaret etmektedir.

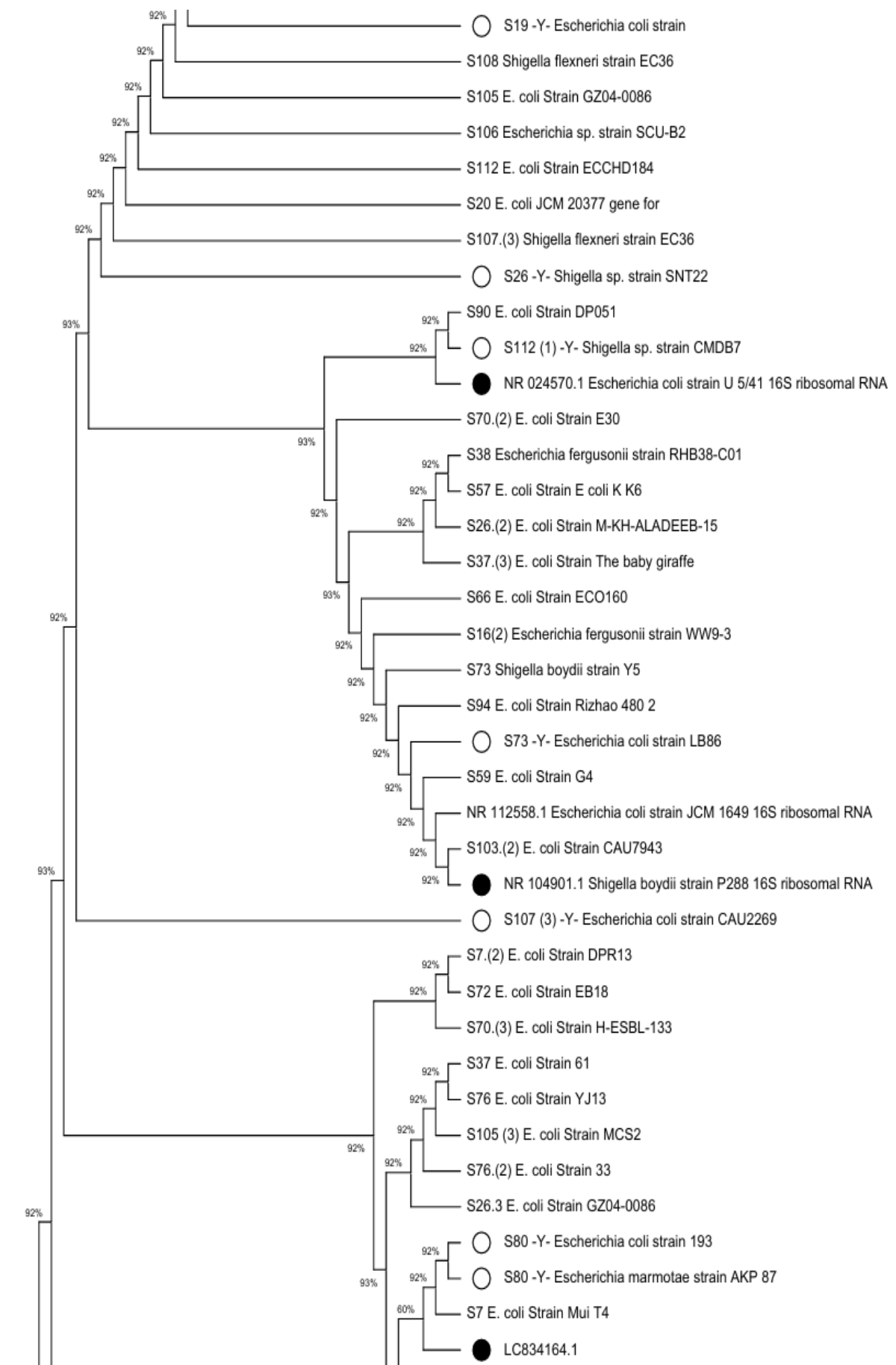
4.11.1 16S rRNA sekanslama ve BLAST analizi ile izolatların moleküler identifikasyonu

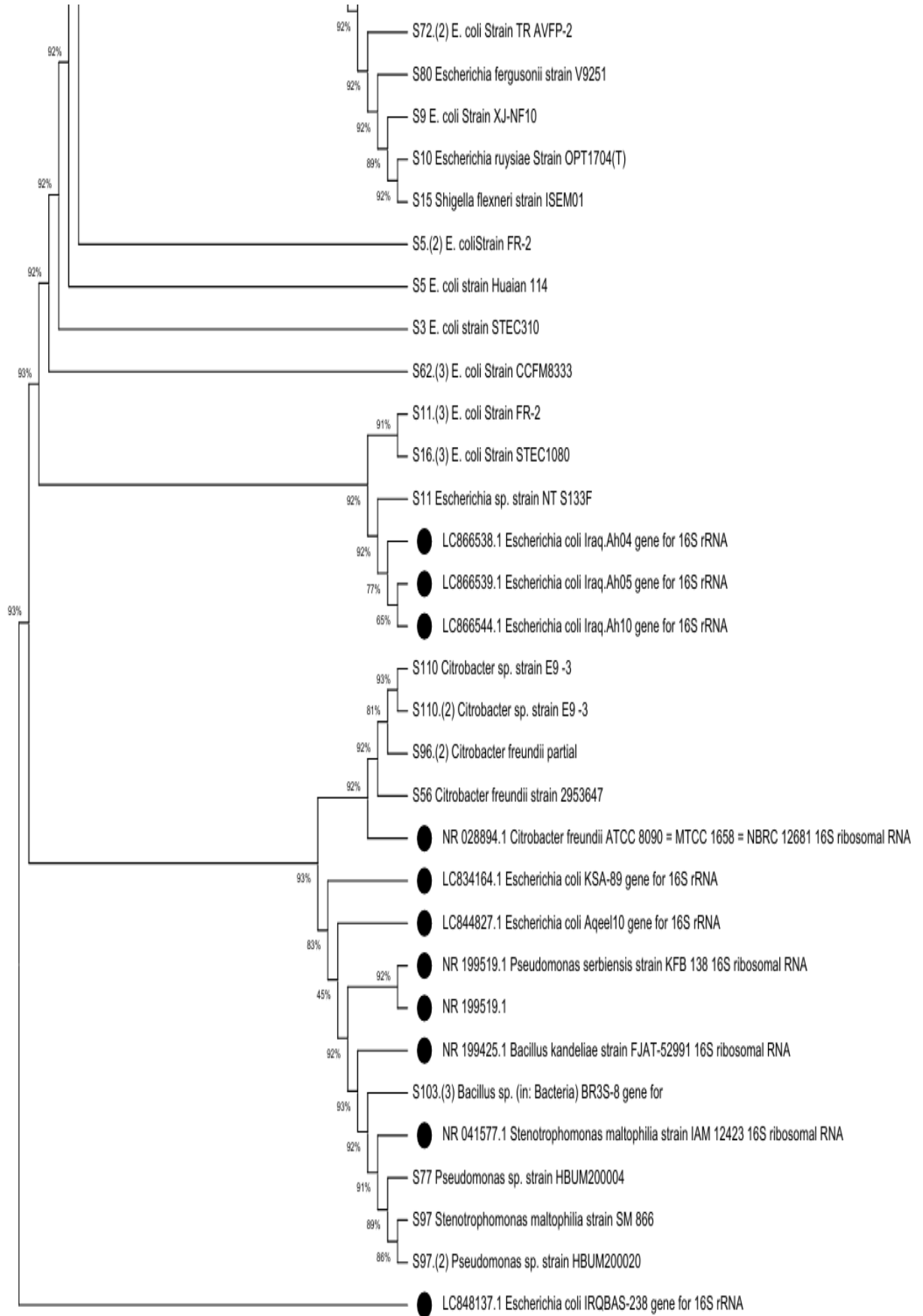
Çalışmada elde edilen 16S rRNA PZR ürünleri, Sanger dizileme yöntemi ile dizilenmiş ve elde edilen sekans verileri BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analizi ile NCBI veri tabanında karşılaştırılmıştır. Analizler sonucunda izolatların büyük çoğunluğunun yüksek benzerlik oranları ($\geq$ % 99) ile *E. coli* türüne ait referans suşlarla eşleştiği belirlenmiştir. Özellikle, izolatların *E. coli* suşlarına ait 16S rRNA gen bölgeleri ile $\geq$ %99 oranında homoloji göstermesi, bu mikroorganizmaların tür düzeyinde *E. coli* olarak tanımlanmasını sağlamıştır (Şekil 4.7 filogenetik ağaç).

Bu sonuçlar, literatürde bildirilen tür tanımlama eşiği olan % 98 ve üzeri benzerlik kriteriyle uyum göstermektedir. Öte yandan, örneklerimizin BLAST taramasında veritabanına daha önce kayıtlı örnekler arasında en yüksek benzerlik gösteren eşleşmeler %74 *E. coli*, %6

Shigella sp., %6 *Citrobacter freundii*, %1.4 *Stenotrophomonas maltophilia* ve %13 diğer türler olarak saptanmıştır.







Şekil 4.7: Çalışmada analiz edilen izolatların filogenetik ağaç yapısı*

*Maksimum Olabilirlik (Maximum Likelihood) Yöntemiyle Evrimsel Analiz

Filogenetik ağaç, Maksimum Olabilirlik (Maximum Likelihood) yöntemi ve Tamura-Nei (1993) modeline (Tamura ve Nei, 1993) dayalı olarak oluşturulmuştur. En yüksek log olasılık değerine (-8.278,16) sahip ağaç sunulmaktadır. Heuristik arama için başlangıç ağacı, Neighbor-Joining (NJ) yöntemi (Saitou ve Nei, 1987) ve Maksimum Parsimony (MP) yöntemleri ile elde edilen ağaçlar arasından en yüksek log-olasılığa sahip olan seçilerek belirlenmiştir. NJ ağacı, Tamura-Nei (1993) modeli (Tamura ve Nei, 1993) kullanılarak hesaplanan çift yönlü mesafelerin matrisine dayanarak oluşturulmuştur. MP ağaçları ise 10 farklı rastgele başlangıç ağacı ile yapılan analizler arasında en kısa uzunluğa sahip olan ağaç olarak seçilmiştir. Ağaçtaki her bir iç düğümde, en az bir bazın net bir şekilde belirlenebildiği pozisyonların oranı belirtilmiştir. Analiz, 972 pozisyon içeren 101 nükleotid dizisiyle gerçekleştirilmiştir. Evrimsel analizler, MEGA12 (Kumar ve diğerleri, 2024) yazılımı kullanılarak 3 paralel iş parçacığına kadar desteklenerek yürütülmüştür.

4.11.2 İzolatların NCBI GenBank Erişim Numaraları

Bu çalışmada elde edilen izolatlara ait gen dizileri, uluslararası erişilebilirliği ve bilimsel şeffaflığı sağlamak amacıyla GenBank veri tabanına yüklenmiş ve her biri için erişim numaraları alınmıştır. Toplam 68 izolatın dizi verileri PV876990 ile PV877057 arasındaki erişim numaralarıyla tanımlanmıştır. Bu sayede çalışmanın verileri, gelecekte yapılacak karşılaştırmalı analizler ve moleküler epidemiyolojik araştırmalar için referans kaynak olarak kullanılabilecek şekilde açık erişime sunulmuştur.

Çizelge 4.6: İzolat Kodları ve İlgili Erişim Numaraları

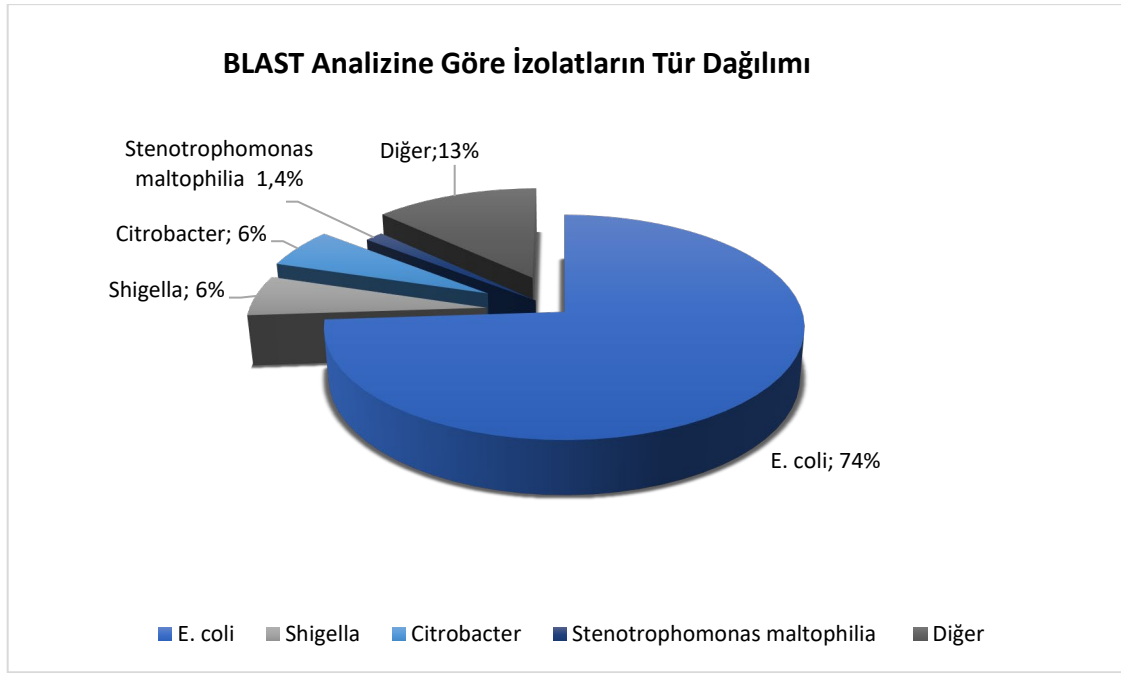
İzolat #	İzolat Kodu	Erişim Numarası
1	3	PV876990
2	5	PV876991
3	5.2	PV876992
4	7	PV876993
5	7.2	PV876994
6	9	PV876995
7	10	PV876996
8	11	PV876997
9	11.3	PV876998
10	15	PV876999
11	16	PV877000
12	16.3	PV877001
13	19	PV877002
14	19.3	PV877003
15	20	PV877004

16	20.3	PV877005
17	23	PV877006
18	24	PV877007
19	26.2	PV877008
20	26.3	PV877009
21	37	PV877010
22	37.3	PV877011
23	38	PV877012
24	38.3	PV877013
25	48	PV877014
26	56	PV877015
27	57	PV877016
28	58	PV877017
29	58.2	PV877018
30	59	PV877019
31	62	PV877020
32	62.3	PV877021
33	66	PV877022
34	68	PV877023
35	70.2	PV877024
36	70.3	PV877025
37	72	PV877026
38	72.2	PV877027
39	73	PV877028
40	75	PV877029
41	75.2	PV877030
42	76	PV877031
43	76.2	PV877032
44	77	PV877033
45	80	PV877034
46	90	PV877035
47	90.3	PV877036

48	94	PV877037
49	94.3	PV877038
50	96	PV877039
51	96.2	PV877040
52	97	PV877041
53	97.2	PV877042
54	102	PV877043
55	103.1	PV877044
56	103.2	PV877045
57	105	PV877046
58	105.2	PV877047
59	106	PV877048
60	107	PV877049
61	107.3	PV877050
62	108	PV877051
63	109	PV877052
64	110	PV877053
65	110.2	PV877054
66	111	PV877055
67	112	PV877056
68	112.2	PV877057

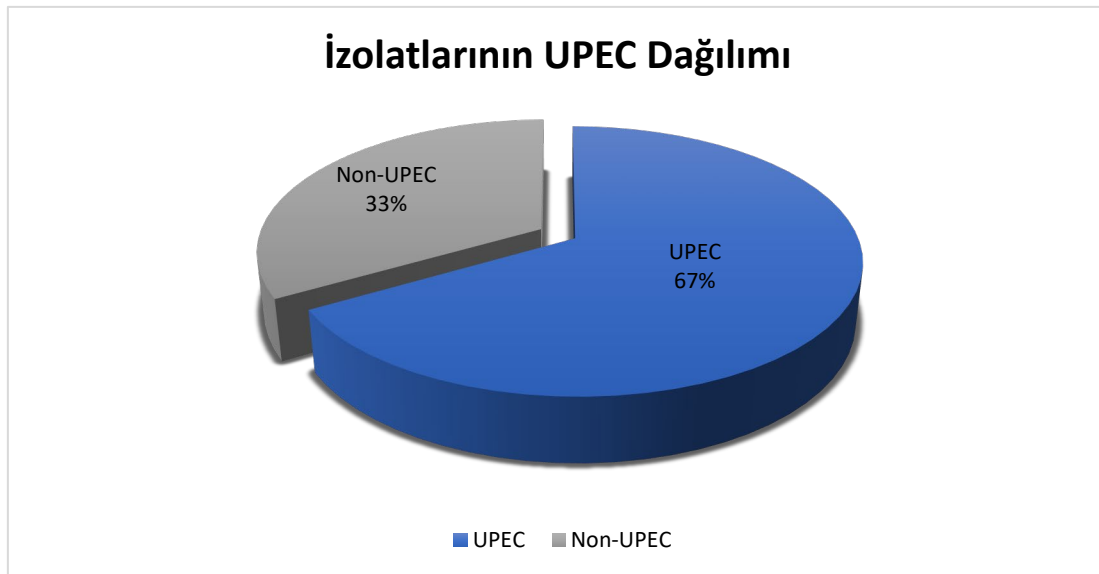
4.11.3 Sekanslama ve virölans gen analizlerinin birlikte değerlendirilmesiyle UPEC potansiyelinin belirlenmesi

16S rRNA gen bölgesine ait sekanslama analizleri, değerlendirilen 69 izolatın büyük çoğunluğunun ($n=51$) *Escherichia coli* türü ile yüksek düzeyde genetik benzerlik taşıdığını ortaya koymuş ve bu sayede tür düzeyinde moleküler identifikasyon doğruluğu sağlanmıştır. Eş zamanlı olarak gerçekleştirilen PZR analizleriyle, UPEC'e özgü 10 virölans geninin varlığı araştırılmış ve bu analizler izolatların potansiyel patojenitelerine ilişkin detaylı moleküler bilgi sunmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: BLAST analizine göre izolatların tür dağılımı

İzolatlara uygulanan iki aşamalı bu moleküler analiz stratejisi, yalnızca taksonomik düzeyde doğrulama sağlamakla kalmamış, aynı zamanda her bir izolatın üropatojenik potansiyele sahip olup olmadığını da değerlendirmeyi mümkün kılmıştır. UPEC tanısında yaygın olarak kabul gören ≥ 3 virülans geni taşıma kriterine göre yapılan sınıflandırma sonucunda, 51 *E. coli* izolatının 34'ü (% 66,60), potansiyel UPEC olarak değerlendirilmiştir. Kalan 17 izolat ise yetersiz virülans gen profili nedeniyle non-UPEC olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: İzolatların UPEC dağılımı

Çalışmamızda, çiğ süttten izole edilen *E. coli* izolatlarında UPEC oranının % 66.60 gibi yüksek bir seviyede bulunması, süt ürünlerinin sadece mikrobiyal kontaminasyon açısından değil, aynı zamanda virülans potansiyeline sahip zoonotik suşlar açısından da ciddi bir taşıyıcı vektör olabileceğini göstermektedir. Bu bulgu, UPEC suşlarının gıda zinciri yoluyla insanlara bulaşma olasılığına dikkat çekmekte ve gıda güvenliği açısından önemli bir halk sağlığı tehdidini ortaya koymaktadır.

Süt, günlük yaşamda yaygın olarak tüketilen temel bir gıda maddesidir. Her ne kadar son tüketici tarafından genellikle ısıt işlem uygulanarak kullanılmakta olsa da süütün sağımdan tüketime kadar geçen süreçte —özellikle üretim, taşıma, depolama ve perakende satış aşamalarında— hijyen standartlarının yeterince sağlanamaması, mikrobiyal kontaminasyon açısından ciddi riskler doğurmaktadır. Bu çalışmada da ortaya konduğu üzere, çiğ süt örneklerinden izole edilen bazı *E. coli* suşları, UPEC ile ilişkili virülans genlerini taşımakta ve bu yönüyle gıda kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabilecek potansiyel bir tehdit oluşturmaktadır.

UPEC suşları; konak dokulara tutunma, hücre içi invazyon, epitel hasarı oluşturma ve bağışıklık sisteminden kaçma gibi mekanizmaları mümkün kılan çok sayıda virülans faktörüne sahiptir. Özellikle kadınlarda, yaşlılarda ve immün sistemi zayıflamış bireylerde tekrarlayan ve komplike seyreden üriner sistem enfeksiyonlarının en önemli etkenleri arasında yer almaktadır. Bu bağlamda süt, yalnızca temel bir besin değil; aynı zamanda yüksek virülans ve antibiyotik direnç potansiyeline sahip patojen mikroorganizmaların taşınmasında rol oynayan sessiz bir vektör olabilir. Elde edilen bulgular, süt üretim zincirinde mikrobiyolojik güvenliğin sağlanmasının sadece gıda güvenliği açısından değil, toplum kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi açısından da hayati bir zorunluluk olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Son dönem çalışmalar, çiftlik hayvanlarının, özellikle de kanatlıların, İYE etkeni UPEC suşlarıyla ortak virülans genlerine sahip *E. coli* türleri için potansiyel rezervuar olabileceğini ileri sürmektedir. İYE hastalarından, gıda kaynaklı ürünlerden (özellikle tavuk eti ve süt) ve çiftlik hayvanlarından izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç profilleri ve virülans faktörleri karşılaştırıldığında, yüksek düzeyde benzerlik gözlemlenmiştir (Jakobsen ve diğerleri, 2010; Mellata ve diğerleri, 2018). Bu bulgular, kontamine gıdalarla bulaşan ve gıda kaynaklı idrar yolu enfeksiyonları (Food-borne urinary tract infections, FUTİ) olarak tanımlanan bir enfeksiyon formuna işaret etmektedir (Nordstrom ve diğerleri, 2013).

Gıda kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının giderek artan önemi, yalnızca tavuk eti ve diğer et ürünleriyle sınırlı kalmayıp, gündelik beslenme alışkanlıklarımızın tüm boyutlarını kapsayacak şekilde genişlemektedir. Kanatlılardan, kırmızı etten ve işlenmiş ürünlerden sonra, özellikle süt ve süt ürünleri gibi temel gıda maddelerinin de UPEC gibi kritik patojenler için potansiyel bir rezervuar olduğu ortaya çıkmıştır. Bu durum, sadece gıda güvenliği açısından değil, aynı zamanda toplum sağlığı perspektifinden de ciddi bir uyarı niteliğindedir. Süt ürünlerinde UPEC izolatlarının varlığı, bu patojenlerin gıda zincirine nüfuz edebildiğini ve dolayısıyla enfeksiyonların kaynağının klinik ortamların dışına çıktığını göstermektedir. Çalışmamızın sonuçları da bu doğrultuda, süt ve süt ürünlerinin UPEC bulaşında göz ardı edilemeyecek bir rol oynadığını ortaya koymakta ve gıda kaynaklı İYE'nin risk alanlarını yeniden değerlendirmemiz gerektiğine işaret etmektedir.



5. SONUÇ

Bu tez çalışması, Malatya ilinin kırsal bölgelerinden elde edilen 122 çiğ süt örneği üzerinden yürütülen kapsamlı bir analizle, çiğ sütlerin *E. coli* kontaminasyonu ve bu bakterilerin antibiyotik direnci ile üropatojenik potansiyeli açısından taşıdığı halk sağlığı risklerini çok boyutlu olarak ortaya koymuştur. Araştırma, fenotipik tanımlama, moleküler doğrulama, antibiyogram testleri ve virülans gen profillemesi gibi disiplinler arası yöntemleri içermektedir. Bu yönüyle çalışma, yalnızca temel mikrobiyolojik analizlerle sınırlı kalmayıp, modern moleküler biyoteknoloji uygulamalarını da entegre ederek, çiğ sütlerin mikrobiyolojik güvenliği konusuna hem tanısal hem de epidemiyolojik açıdan derinlikli bir bakış sunmaktadır.

Toplamda 206 bakteri kolonisinin izole edildiği çalışmada, 115 koloni fenotipik ve biyokimyasal testlerle *E. coli* olarak tanımlanmıştır. Gram boyama, IMViC, TSI, katalaz ve oksidaz testleriyle desteklenen bu tanımlama süreci, çiğ sütün üretim, sağım, taşıma ve saklama zincirindeki hijyen koşullarının yetersizliğine işaret etmektedir. Bu tür patojenik bakterilerin süt ürünlerinde bu denli yaygın olarak bulunması, tüketiciye ulaşan ürünlerin mikrobiyolojik açıdan güvenli olmadığına dair önemli bir gösterge niteliğindedir ve özellikle taze tüketilen sütlerde halk sağlığını tehdit eden ciddi bir risk profili yansıtmaktadır.

Antibiyotik duyarlılık testleri, çiğ süt örneklerinden elde edilen *E. coli* izolatlarının çok sayıda yaygın antibiyotiğe karşı direnç geliştirmiş olduğunu ortaya koymuştur. Tüm izolatlar sefalotine karşı dirençli bulunmuştur. Bu bulgu, özellikle veteriner saha uygulamalarında bu antibiyotiğin kontrolsüz kullanımına işaret etmektedir. Fosfomisin (%25.2), sulfametoksazol (%8.7), sefotaksim (%6.95), gentamisin (%6.08), siprofloksasin (%5.21), ertapenem (%6.08) ve amoksisilin gibi geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı gözlenen direnç oranları ise, çiğ süt örneklerinden izole edilen suşların sadece çevresel kaynaklı değil, aynı zamanda klinik öneme sahip direnç mekanizmalarına sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, özellikle antibiyotik tedavilerinin etkinliğini azaltabilecek dirençli suşların gıda zinciri aracılığıyla insanlara bulaşabileceğine dair önemli bir halk sağlığı riskine işaret etmektedir.

Çalışmada elde edilen MAR (Multiple Antibiotic Resistance, Çoklu Antibiyotik Direnci) indeksi 0,178 olarak hesaplanmıştır. Bu değer, izolatların test edilen antibiyotiklerin yaklaşık %18'ine karşı direnç geliştirdiğini ve orta düzeyde bir antibiyotik baskısı altında seçilime uğradıklarını göstermektedir. MAR indeksi >0.2 olan örnekler genellikle yüksek riskli kontaminasyon kaynaklarını işaret ederken, çalışmamızda hesaplanan değer bu eşik değere oldukça yakın olup, dikkatle izlenmesi gereken bir direniş düzeyine işaret etmektedir. Bu durum, çiğ süt üretiminde kullanılan hayvansal kaynaklı antibiyotiklerin çevresel yansımalarının izlenmesi gerektiğini, özellikle de dirençli suşların besin zincirine entegre olmasının önüne geçilmesi için hayvancılıkta antibiyotik kullanımına ilişkin düzenleyici politikaların gözden geçirilmesinin gerekli olduğunu göstermektedir.

UPEC karakterizasyonu amacıyla gerçekleştirilen moleküler taramalarda, 69 *E. coli* izolatı PZR yöntemi ile analiz edilmiştir. Toplam 10 farklı virülans geninin tarandığı bu aşamada en sık tespit edilen genler *fimA* (% 98.5) ve *agn43* (% 95.6) olmuştur. Bu genlerin yüksek prevalansı, bakterilerin konak hücrelere tutunma, kolonizasyon ve biyofilm oluşturma yeteneklerinin güçlü olduğunu göstermektedir. Ayrıca, *papC*, *kpsMII*, *iutA*, *cnf1* ve *iroN* gibi UPEC patotipine özgü genlerin de farklı oranlarda saptanması, bu izolatların konak invazyonu, demir alımı, kapsül oluşumu ve toksin üretimi gibi virülans mekanizmalarına sahip olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, çiğ süt kaynaklı *E. coli* suşlarının yalnızca kontaminasyon indikatörü olarak değil, aynı zamanda konak organizmalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilecek genetik donanıma sahip patojenler olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Bu genetik analizler sonucunda, en az üç farklı virülans geni taşıyan 43 izolat (% 62,3) potansiyel UPEC suşu olarak sınıflandırılmıştır. Bu oran, çiğ süt örneklerinin yalnızca kontaminasyon riski değil, aynı zamanda üropatojenik enfeksiyonlara yol açabilecek zoonotik etkenler bakımından da önemli bir taşıyıcı ortam olduğunu göstermektedir. UPEC suşlarının insanlarda idrar yolu enfeksiyonları başta olmak üzere çeşitli sistemik hastalıklarla ilişkilendirildiği göz önünde bulundurulduğunda, bu bulgu, çiğ sütün sadece gıda güvenliği açısından değil, aynı zamanda toplum sağlığı üzerinde dolaylı etkileri olan bir risk faktörü olduğunu da ortaya koymaktadır. Bu nedenle, çiğ süt tüketimi ve işlenmesi sırasında yalnızca mikrobiyal yük değil, aynı zamanda bu mikroorganizmaların taşıdığı virülans potansiyeli de göz önünde bulundurulmalı ve bu doğrultuda hijyenik önlemler, ısıl işlemler ve düzenleyici politikalar yeniden yapılandırılmalıdır.

Bu çalışmada çiğ süt örneklerinden izole edilen bakteri suşlarının tür düzeyinde moleküler doğrulaması, 16S rRNA gen bölgesinin Sanger dizileme yöntemiyle sekanslanması ve BLAST analizi aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sekans verilerinin NCBI veri tabanındaki referans dizilerle karşılaştırılması sonucunda, analiz edilen 69 izolatın büyük çoğunluğunun (% 73,91; n=51), $\geq$ %99 homoloji oranı ile *E. coli* türüne ait olduğu belirlenmiştir. Bu yüksek benzerlik düzeyi, fenotipik tanımlamanın moleküler düzeyde güvenilirliğini pekiştirmiş ve izolatların taksonomik doğruluğunu ortaya koymuştur.

Ayrıca, aynı izolatlar üzerinde gerçekleştirilen virülans gen analizleriyle, UPEC *E. coli* tanısında yaygın olarak kullanılan 10 hedef genin varlığı araştırılmış ve her bir izolatın patojenik potansiyeli değerlendirilmiştir. Yapılan sınıflandırmaya göre, *E. coli* olarak doğrulanan 51 izolatın 34'ü (% 66.60), en az üç virülans genini taşıması nedeniyle potansiyel UPEC olarak tanımlanmıştır. Bu bulgu, çiğ süt örneklerinde yalnızca *E. coli* kontaminasyonunun yaygın olduğunu değil, aynı zamanda bu suşların önemli bir kısmının üropatojenik özellikler taşıdığını da göstermektedir.

Çiğ süt tüketimi, özellikle geleneksel üretim ve pazarlama sistemlerinde yaygın olmakla birlikte, yeterli hijyen önlemleri alınmadığı takdirde dirençli ve virülant mikroorganizmaların toplumda dolaşımını kolaylaştıran bir vektöre dönüşebilir. Gıda üretim zincirinde, hayvan sağlığına yönelik uygulamalar, sağım koşulları, taşıma süreçleri ve tüketiciye sunum aşamalarındaki hijyen uygulamaları eksik kaldığında, çiğ süt mikrobiyolojik açıdan önemli bir bulaş kaynağı haline gelir. Çalışmanın ortaya koyduğu bulgular, çiğ sütün doğrudan veya dolaylı olarak insan sağlığını tehdit eden patojenleri taşıyabileceğini göstermekte ve bu nedenle çiğ sütle ilgili üretim ve tüketim alışkanlıklarının, bilimsel verilere dayalı olarak yeniden değerlendirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Ayrıca moleküler tanımlama tekniklerinin klasik fenotipik yöntemlerle entegre kullanımı, gıda kaynaklı patojenlerin tanısında hem duyarlılığı hem de özgüllüğü artırmaktadır. Bu durum, özellikle salgın riski taşıyan patojenlerin hızlı ve doğru bir şekilde izlenmesini mümkün kılmakta; halk sağlığına yönelik erken uyarı sistemlerinin oluşturulmasına katkı sağlamaktadır. Gelecekte benzer çalışmaların metagenomik analizler, resistomik taramalar ve gen ekspresyon profilleriyle desteklenmesi, çok daha kapsamlı bir mikrobiyal risk değerlendirmesi yapılmasını sağlayacaktır. Bu sayede yalnızca mevcut patojen varlığı değil, aynı zamanda çevresel streslere karşı verdikleri yanıtlar, genetik adaptasyon kapasiteleri ve konak etkileşim düzeyleri de daha ayrıntılı biçimde ortaya konabilecektir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının yalnızca kontaminant bakteriler değil; aynı zamanda potansiyel olarak antibiyotik dirençli, üropatojenik ve zoonotik risk taşıyan mikroorganizmalar olduğunu bilimsel olarak ortaya koymuştur. Bu açıdan çiğ süt, yalnızca besleyici değil, aynı zamanda uygun şekilde işlenmediğinde mikrobiyolojik risk barındıran bir gıda ürünü olarak değerlendirilmelidir. Elde edilen bulgular, çiğ süt üretim zincirinin her aşamasında (sağım, depolama, taşıma ve satış) hijyen uygulamalarının titizlikle uygulanmasının ve sürekli denetlenmesinin zorunlu olduğunu göstermektedir. Özellikle kırsal bölgelerdeki küçük ölçekli üreticiler ve geleneksel dağıtım sistemleri açısından değerlendirildiğinde, bu tür bilimsel veriler ışığında geliştirilecek eğitim ve denetim programlarının, gıda kaynaklı bulaşıcı hastalıkların önlenmesinde temel rol oynayacağı açıktır.



KAYNAKÇA

- Abe, C. M., Salvador, F. A., Falsetti, I. N., Vieira, M. A. M., Blanco, J., Blanco, J. E., ... Gomes, T. A. T.** (2008). Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 52(3), 397-406. doi:10.1111/J.1574-695X.2008.00388.X,
- Aldawood, E. ve Roberts, I. S.** (2022). Regulation of *Escherichia coli* Group 2 Capsule Gene Expression: A Mini Review and Update. *Frontiers in Microbiology*, 13. doi:10.3389/FMICB.2022.858767,
- Alshabbani, H. M. S.** (2022). İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen Enterobacteriaceae'lerde antibiyotik direnç genlerinin moleküler karakterizasyonu. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/TezGoster?key=RsTBl6RWK25OBMIKtIgY YbiTKnVb3TgA9GwFvfcVZGHFPkuSm_jJdSFU6a7oTQyE adresinden erişildi.
- Apostolou, E., Pelto, L., Kirjavainen, P. V., Isolauri, E., Salminen, S. J. ve Gibson, G. R.** (2001). Differences in the gut bacterial flora of healthy and milk-hypersensitive adults, as measured by fluorescence in situ hybridization. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 30(3), 217-221. doi:10.1111/J.1574-695X.2001.TB01573.X
- Aryal, S.** (2022, 6 Ocak). MacConkey Agar- Bileşim, Prensip, Hazırlanışı, Sonuçlar, Kullanımlar. 17 Mayıs 2025 tarihinde <https://microbenotes.com/macconkey-agar/> adresinden erişildi.
- Aryal, S.** (2022, 10 Ağustos). MacConkey Agar- Composition, Principle, Uses, Preparation and Colony Morphology. 17 Mayıs 2025 tarihinde https://microbiologyinfo.com/macconkey-agar-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/?utm_source=chatgpt.com adresinden erişildi.
- Atlas, R. M.** (2010). *Handbook of Microbiological Media. Handbook of Microbiological Media*. CRC Press. doi:10.1201/EBK1439804063
- Aydın, F., İça, T. ve Yontar, A.** (2010). Kayseri Yöresinde Süt Sığırlarında *Escherichia Coli* O157:H7'nin Konvansiyonel Ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19(3), 159-166. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/eujhs/issue/44544/552525> adresinden erişildi.
- Balows, A.** (2003). Manual of clinical microbiology 8th edition: P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgenson, M. A. Pfaller, and R. H. Tenen, eds., ASM Press, 2003, 2113 pages, 2 vol, 2003 + subject & author indices, ISBN: 1-555810255-4, US\$ 189.95. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 47(4), 625. doi:10.1016/S0732-8893(03)00160-3
- Beceiro, A., Tomás, M. ve Bou, G.** (2013). Antimicrobial Resistance and Virulence: a Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? *Clinical Microbiology Reviews*, 26(2), 185. doi:10.1128/CMR.00059-12

- Beloin, C., Roux, A. ve Ghigo, J. M.** (2008). Escherichia coli biofilms. *Current topics in microbiology and immunology*, 322, 249-289. doi:10.1007/978-3-540-75418-3_12
- Bien, J., Sokolova, O. ve Bozko, P.** (2012). Role of Uropathogenic Escherichia coli Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. *International Journal of Nephrology*, 2012, 681473. doi:10.1155/2012/681473
- Birdal¹, E. ve Ak², S.** (2018). Prevalence of E. coli O157:H7 in Dairy Cattle and the Farm Environment. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 3(2), 85-90. doi:10.35229/JAES.387063
- Black, R. E., Williams, S. M., Jones, L. E. ve Goulding, A.** (2002). Children who avoid drinking cow milk have low dietary calcium intakes and poor bone health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(3), 675-680. doi:10.1093/AJCN/76.3.675
- 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-ξ). *Journal of Clinical Microbiology*, 42(2), 645-651. doi:10.1128/JCM.42.2.645-651.2004,
- Brons, J. K., Vink, S. N., de Vos, M. G. J., Reuter, S., Dobrindt, U. ve van Elsas, J. D.** (2020). Fast identification of Escherichia coli in urinary tract infections using a virulence gene based PCR approach in a novel thermal cycler. *Journal of Microbiological Methods*, 169. doi:10.1016/J.MIMET.2019.105799,
- Caine, L. A., Nwodo, U. U., Okoh, A. I., Ndip, R. N. ve Green, E.** (2014). Occurrence of virulence Genes associated with Diarrheagenic Escherichia coli isolated from raw cow's milk from two commercial dairy farms in the Eastern Cape province, South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(11), 11950-11963. doi:10.3390/IJERPH111111950,
- Cappuccino, J. G. ve Welsh, C.** (2019). *Microbiology: A Laboratory Manual* (12th ed.). Pearson.
- Cepas, V. ve Soto, S. M.** (2020). Relationship between virulence and resistance among gram-negative bacteria. *Antibiotics*, 9(10), 1-11. doi:10.3390/ANTIBIOTICS9100719,
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N. ve Alland, D.** (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 69(2), 330-339. doi:10.1016/j.mimet.2007.02.005
- Cheesbrough, M.** (2006). District Laboratory Practice in Tropical Countries. *District Laboratory Practice in Tropical Countries, Second Edition*, 1-434. doi:10.1017/CBO9780511543470
- CLSI, C. and L. S.** (2022). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. *CLSI supplement M100*. 18 Mayıs 2025 tarihinde <https://clsi.org/about/news/clsi-publishes-m100-performance-standards-for-antimicrobial-susceptibility-testing-32nd-edition/> adresinden erişildi.
- Dahal, P.** (2023). Triple-Sugar Iron Agar Medium for the Identification of the Intestinal Group of Bacteria. *Journal of Bacteriology*.
- Dahal, P.** (2024). IMViC Test: Principle, Result Chart, Examples, Uses. *Applied and Environmental Microbiology*.

- Dale, A. P. ve Woodford, N.** (2015). Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones. *The Journal of infection*, 71(6), 615-626. doi:10.1016/J.JINF.2015.09.009
- Davis, J. M., Carvalho, H. M., Rasmussen, S. B. ve O'Brien, A. D.** (2006). Cytotoxic necrotizing factor type 1 delivered by outer membrane vesicles of uropathogenic *Escherichia coli* attenuates polymorphonuclear leukocyte antimicrobial activity and chemotaxis. *Infection and immunity*, 74(8), 4401-4408. doi:10.1128/IAI.00637-06
- De La Rosa-Hernández, M. C., Cadena-Ramírez, A., Téllez-Jurado, A., Gómez-Aldapa, C. A., Rangel-Vargas, E., Chávez-Urbiola, E. A. ve Castro-Rosas, J.** (2018). Presence of multidrug-resistant shiga toxin-producing *Escherichia coli*, Enteropathogenic *Escherichia coli*, and enterotoxigenic *Escherichia coli* on fresh cheeses from local retail markets in Mexico. *Journal of Food Protection*, 81(11), 1748-1754. doi:10.4315/0362-028X.JFP-18-166
- De Luna, M. D. G., Scott-Tucker, A., Desvaux, M., Ferguson, P., Morin, N. P., Dudley, E. G., ... Henderson, I. R.** (2008). The *Escherichia coli* biofilm-promoting protein Antigen 43 does not contribute to intestinal colonization. *FEMS Microbiology Letters*, 284(2), 237-246. doi:10.1111/J.1574-6968.2008.01207.X,
- Derakhshan, S., Ahmadi, S., Ahmadi, E., Nasser, S. ve Aghaei, A.** (2022). Characterization of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection and association between virulence expression and antimicrobial susceptibility. *BMC Microbiology*, 22(1). doi:10.1186/S12866-022-02506-0,
- EFSA.** (2015). Scientific Opinion on the public health risks related to the consumption of raw drinking milk. *EFSA Journal*, 13(1). doi:10.2903/J.EFSA.2015.3940
- Ejrnæs, K., Stegger, M., Reisner, A., Ferry, S., Monsen, T., Holm, S. E., ... Frimodt-Møller, N.** (2011). Characteristics of *Escherichia coli* causing persistence or relapse of urinary tract infections: Phylogenetic groups, virulence factors and biofilm formation. *Virulence*, 2(6), 528-537. doi:10.4161/VIRU.2.6.18189,
- Elbastawesy, A. M., Awasthi, S. P., Hatanaka, N., Hinenoya, A., Iguchi, A., Ombarak, R. A., ... Yamasaki, S.** (2025). Prevalence of potentially pathogenic and antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in raw milk and dairy products in Egypt. *International Dairy Journal*, 162, 106145. doi:10.1016/J.IDAIRYJ.2024.106145
- El-Saeed, B. A., Elshebrawy, H. A., Zakaria, A. I., Abdelkhalek, A., Imre, K., Morar, A., ... Sallam, K. I.** (2024). Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* and Other Gram-Negative Species Isolated from Native Egyptian Chicken Carcasses. *Tropical Medicine and Infectious Disease* 2024, Vol. 9, Page 217, 9(9), 217. doi:10.3390/TROPICALMED9090217
- Emody, L., Kerényi, M. ve Nagy, G.** (2003). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 22(SUPPL. 2). doi:10.1016/S0924-8579(03)00236-X
- Fàbrega, A., Madurga, S., Giralt, E. ve Vila, J.** (2009). Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microbial Biotechnology*, 2(1), 40-61. doi:10.1111/J.1751-7915.2008.00063.X,
- Flemming, H. C. ve Wingender, J.** (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623-633. doi:10.1038/NRMICRO2415;SUBJMETA=326,46,631;KWRD=BIOFILMS

- Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M. ve Hultgren, S. J.** (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology* 2015 13:5, 13(5), 269-284. doi:10.1038/nrmicro3432
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S.** (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* (12th ed.). Mosby Elsevier.
- Foxman, B.** (2010). The epidemiology of urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*, 7(12), 653-660. doi:10.1038/NRUROL.2010.190,
- Garbaj, A. M., Awad, E. M., Azwai, S. M., Abolghait, S. K., Naas, H. T., Moawad, A. A., ... Eldaghayes, I. M.** (2016). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in milk and dairy products from Libya: Isolation and molecular identification by partial sequencing of 16S rDNA. *Veterinary World*, 9(11), 1184-1189. doi:10.14202/VETWORLD.2016.1184-1189
- García, V., Lestón, L., Parga, A., García-Meniño, I., Fernández, J., Otero, A., ... Mora, A.** (2023). Genomics, biofilm formation and infection of bladder epithelial cells in potentially uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) from animal sources and human urinary tract infections (UTIs) further support food-borne transmission. *One Health*, 16. doi:10.1016/j.onehlt.2023.100558
- Garénaux, A., Caza, M. ve Dozois, C. M.** (2011). The Ins and Outs of siderophore mediated iron uptake by extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology*, 153(1-2), 89-98. doi:10.1016/J.VETMIC.2011.05.023
- Guner, C. O. ve Kızılyıldırım, S.** (2022). Tüketime Sunulan Çiğ Sütlerde *Escherichia coli* O157:H7 Araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(3), 441-447. doi:10.22312/SDUSBED.1202809
- Guzman-Hernandez, R., Contreras-Rodriguez, A., Hernandez-Velez, R., Perez-Martinez, I., Lopez-Merino, A., Zaidi, M. B. ve Estrada-Garcia, T.** (2016). Mexican unpasteurised fresh cheeses are contaminated with *Salmonella* spp., non-O157 Shiga toxin producing *Escherichia coli* and potential uropathogenic *E. coli* strains: A public health risk. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 10-16. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.018
- Habibi, M., AsadiKaram, M. R. ve Bouzari, S.** (2017). Evaluation of prevalence, immunogenicity and efficacy of FyuA iron receptor in uropathogenic *Escherichia coli* isolates as a vaccine target against urinary tract infection. *Microbial Pathogenesis*, 110, 477-483. doi:10.1016/j.micpath.2017.07.037
- Hancock, V., Ferrières, L. ve Klemm, P.** (2008). The ferric yersiniabactin uptake receptor FyuA is required for efficient biofilm formation by urinary tract infectious *Escherichia coli* in human urine. *Microbiology (Reading, England)*, 154(Pt 1), 167-175. doi:10.1099/MIC.0.2007/011981-0
- Hasan, A., Reza, M. A., Rume, F. I., Meher, M. M., Parvej, M. S. ve Anower, A. M.** (2018). Prevalence and Antibiotic Resistance Pattern of *Escherichia coli* Isolated from Raw Dairy Milk. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 6(9), 1108-1113. doi:10.24925/TURJAF.V6I9.1108-1113.1788
- Heaney, R. P.** (2000). Calcium, dairy products and osteoporosis. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(2 Suppl), 83S-99S. doi:10.1080/07315724.2000.10718088
- Hopkins, K. L., Davies, R. H. ve Threlfall, E. J.** (2005). Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: Recent developments. *International*

Journal of Antimicrobial Agents, 25(5), 358-373.
doi:10.1016/J.IJANTIMICAG.2005.02.006,

- Imre, K., Ban-Cucerzan, A., Herman, V., Sallam, K. I., Cristina, R. T., Abd-Elghany, S. M., ... Morar, A.** (2022). Occurrence, Pathogenic Potential and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Raw Milk Cheese Commercialized in Banat Region, Romania. *Antibiotics*, 11(6), 721.
doi:10.3390/ANTIBIOTICS11060721/S1
- İnat, G., Sırıken, B. ve Pamuk, Ş.** (2017, 1 Ocak). *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in Raw Cow Milk. *Animal Health Production and Hygiene*. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/aduveterinary/issue/58803/848635> adresinden erişildi.
- Jakobsen, L., Kurbasic, A., Skjøl-Rasmussen, L., Ejrnæs, K., Porsbo, L. J., Pedersen, K., ... Hammerum, A. M.** (2010). *Escherichia coli* Isolates from Broiler Chicken Meat, Broiler Chickens, Pork, and Pigs Share Phylogroups and Antimicrobial Resistance with Community-Dwelling Humans and Patients with Urinary Tract Infection. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(5), 537-547.
doi:10.1089/FPD.2009.0409
- Jalali, H. R., Pourbakhsh, A., Fallah, F. ve Eslami, G.** (2015). Genotyping of Virulence Factors of Uropathogenic *Escherichia coli* by PCR. *Novelty in Biomedicine*, 3(4), 177-181. doi:10.22037/NBM.V3I4.8036
- Janda, J. M. ve Abbott, S. L.** (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761-2764. doi:10.1128/JCM.01228-07,
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T. ve Ishii, S.** (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570-581. doi:10.1111/JAM.13468
- Jay, J. M.** (2000). *Modern food microbiology* (7th ed.). Aspen Publishers.
- Jay, J. M., Loessner, M. J. ve Golden, D. A.** (2005). *Modern Food Microbiology* (7th ed.). Springer Science+Business Media. BioMed Central.
- Johnson, J. R.** (1991). Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 4(1), 80-128. doi:10.1128/CMR.4.1.80,
- Johnson, J. R. ve Russo, T. A.** (2005). Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. *International Journal of Medical Microbiology*, 295(6-7), 383-404. doi:10.1016/J.IJMM.2005.07.005
- Johnson, J. R. ve Russo, T. A.** (2018). Molecular Epidemiology of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* . *EcoSal Plus*, 8(1). doi:10.1128/ECOSALPLUS.ESP-0004-2017,
- Johnson, J. R. ve Stell, A. L.** (2000). Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *Journal of Infectious Diseases*, 181(1), 261-272. doi:10.1086/315217,
- Jorgensen, J. H. ve Ferraro, M. J.** (2009). Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749-1755. doi:10.1086/647952/2/M_49-11-1749-FIG001.GIF

- Jung, B. ve Hoilat, G. J.** (2024). MacConkey Medium. *StatPearls*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557394/> adresinden erişildi.
- Kalkan, S. ve Halkman, K.** (2006). Bacillus cereus ve İçme Sütünde Oluşturduğu Sorunlar. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 04(01), 1-11.
<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/ElektronikDergi.aspx?F6E10F8892433CFFA79D6F5E6C1B43FF1D0C78595477C54E> adresinden erişildi.
- Kaper, J. B.** (2005). Pathogenic Escherichia coli. *International Journal of Medical Microbiology*, 295(6-7), 355-356. doi:10.1016/J.IJMM.2005.06.008
- Kaper, J. B., Nataro, J. P. ve Mobley, H. L. T.** (2004). Pathogenic Escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology* 2004 2:2, 2(2), 123-140. doi:10.1038/nrmicro818
- Khairy, R. M., Mohamed, E. S., Ghany, H. M. A. ve Abdelrahim, S. S.** (2019). Phylogenetic classification and virulence genes profiles of uropathogenic E. coli and diarrhegenic E. coli strains isolated from community acquired infections. *PLoS ONE*, 14(9). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0222441,
- Klein, R. D. ve Hultgren, S. J.** (2020). Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host-pathogen interactions and new treatment strategies. *Nature reviews. Microbiology*, 18(4), 211. doi:10.1038/S41579-020-0324-0
- Kong, L. C., Guo, X., Wang, Z., Gao, Y. H., Jia, B. Y., Liu, S. M. ve Ma, H. X.** (2017). Whole genome sequencing of an ExPEC that caused fatal pneumonia at a pig farm in Changchun, China. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 1-8. doi:10.1186/S12917-017-1093-5/FIGURES/4
- Köves, B. ve Wullt, B.** (2016). The Roles of the Host and the Pathogens in Urinary Tract Infections. *European Urology Supplements*, 15(4), 88-94. doi:10.1016/J.EURSUP.2016.04.005
- Krishnakumar, K.** (2016, Aralık). COMPARITIVE STUDY ON DURABILITY PROPERTIES OF BACTERIAL CONCRETE. *Uluslararası Mühendislik ve Teknoloji Araştırma Dergisi (IRJET)* . 6 Temmuz 2025 tarihinde https://www.researchgate.net/publication/313029996_COMPARITIVE_STUDY_ON_DURABILITY_PROPERTIES_OF_BACTERIAL_CONCRETE adresinden erişildi.
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S. ve Tamura, K.** (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular biology and evolution*, 41(12). doi:10.1093/MOLBEV/MSAE263,
- Leboffe, M. ve Pierce, B. E.** (2015). *Microbiology: Laboratory theory and application. Microbiology Laboratory Theory and Application* (4th ed.). Morton Publishing Co.
- Lee, Y.-J., Cho, J.-K., Kim, K.-S., Tak, R.-B., Kim, A.-R., Kim, J. W., ... Kim, B.-H.** (2005). Fluoroquinolone resistance and gyrA and parC mutations of Escherichia coli isolated from chicken. *American Journal of Veterinary Research*, 43(5), 391-397. doi:10.2460/ajvr.68.8.812
- Leff, D.** (2024, 11 Aralık). TSI Testi - Prensi, Prosedür, Kullanımlar ve Sonuçlar Açıklandı. 18 Mayıs 2025 tarihinde https://www.aboutdarwin.com/tsi-test/?utm_source=chatgpt.com adresinden erişildi.
- Li, K., Xu, L., Tian, M., Yang, M., Jia, L., Zou, D., ... Ma, Y.** (2022). The pathogenic potential and genetic attributes of Escherichia coli in milk from dairy cows with

- subclinical mastitis. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, 57(11), 876-882.
doi:10.1080/03601234.2022.2129239
- Liu, H., Meng, L., Dong, L., Zhang, Y., Wang, J. ve Zheng, N.** (2021). Prevalence, Antimicrobial Susceptibility, and Molecular Characterization of *Escherichia coli* Isolated From Raw Milk in Dairy Herds in Northern China. *Frontiers in Microbiology*, 12, 730656. doi:10.3389/FMICB.2021.730656/FULL
- Lloyd, A. L., Rasko, D. A. ve Mobley, H. L. T.** (2007). Defining genomic islands and uropathogen-specific genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 189(9), 3532-3546. doi:10.1128/JB.01744-06,
- Lucero, N. E., Escobar, G. I., Ayala, S. M. ve Jacob, N.** (2005). Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *Journal of Medical Microbiology*, 54(5), 457-461. doi:10.1099/JMM.0.45927-0/CITE/REFWORKS
- MacFaddin, J. F.** (2000). *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* (3rd bs.). Philadelphia.
- Madigan, M., Bender, K., Buckley, D., Sattley, W. M. ve Stahl, D.** (2019). *Brock Biology of Microorganisms 15th Edition (2019)*. (S. Beuparlant, Ed.)Pearson. Pearson education Lmted.
- Manges, A. R., Johnson, J. R., Foxman, B., O'Bryan, T. T., Fullerton, K. E. ve Riley, L. W.** (2001). Widespread Distribution of Urinary Tract Infections Caused by a Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Clonal Group . *New England Journal of Medicine*, 345(14), 1007-1013. doi:10.1056/NEJMOA011265,
- McNally, A., Oren, Y., Kelly, D., Pascoe, B., Dunn, S., Sreecharan, T., ... Corander, J.** (2016). Combined Analysis of Variation in Core, Accessory and Regulatory Genome Regions Provides a Super-Resolution View into the Evolution of Bacterial Populations. *PLoS Genetics*, 12(9). doi:10.1371/JOURNAL.PGEN.1006280,
- Medina, M. ve Castillo-Pino, E.** (2019). An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. *Therapeutic Advances in Urology*, 11. doi:10.1177/1756287219832172
- Mellata, M., Johnson, J. R. ve Curtiss, R.** (2018). *Escherichia coli* isolates from commercial chicken meat and eggs cause sepsis, meningitis and urinary tract infection in rodent models of human infections. *Zoonoses and Public Health*, 65(1), 103-113. doi:10.1111/ZPH.12376,
- Mullis, K. B. ve Faloona, F. A.** (1987). [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155(C), 335-350. doi:10.1016/0076-6879(87)55023-6
- Mulvey, M. A., Schilling, J. D. ve Hultgren, S. J.** (2001). Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infection and immunity*, 69(7), 4572-4579. doi:10.1128/IAI.69.7.4572-4579.2001
- Mulvey, Matthew A., Schilling, J. D., Martinez, J. J. ve Hultgren, S. J.** (2000). Bad bugs and beleaguered bladders: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(16), 8829. doi:10.1073/PNAS.97.16.8829

- Mysorekar, I. U. ve Hultgren, S. J.** (2006). Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* persistence and eradication from the urinary tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(38), 14170-14175. doi:10.1073/PNAS.0602136103
- Neamati, F., Firoozeh, F., Saffari, M. ve Zibaei, M.** (2015). Virulence genes and antimicrobial resistance pattern in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in Kashan, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(2). doi:10.5812/JJM.17514,
- Nichols, K. B., Totsika, M., Moriel, D. G., Lo, A. W., Yang, J., Wurpel, D. J., ... Schembri, M. A.** (2016). Molecular characterization of the vacuolating autotransporter toxin in uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 198(10), 1487-1498. doi:10.1128/JB.00791-15/SUPPL_FILE/ZJB999094008SO1.PDF
- Nordstrom, L., Liu, C. M. ve Price, L. B.** (2013). Foodborne urinary tract infections: A new paradigm for antimicrobial-resistant foodborne illness. *Frontiers in Microbiology*, 4(MAR). doi:10.3389/FMICB.2013.00029,
- Oelschlaeger, T. A., Dobrindt, U. ve Hacker, J.** (2002). Pathogenicity islands of uropathogenic *E. coli* and the evolution of virulence. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19(6), 517-521. doi:10.1016/S0924-8579(02)00092-4
- Olajide, A. M. ve LaPointe, G.** (2022, 1 Ocak). Microorganisms Associated with Raw Milk. *Encyclopedia of Dairy Sciences: Third edition*. Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-818766-1.00023-4
- Oliver, S. P., Jayarao, B. M. ve Almeida, R. A.** (2005). Foodborne Pathogens in Milk and the Dairy Farm Environment: Food Safety and Public Health Implications. <https://home.liebertpub.com/fpd>, 2(2), 115-129. doi:10.1089/FPD.2005.2.115
- Omarak, R. A., Hinenoya, A., Awasthi, S. P., Iguchi, A., Shima, A., Elbagory, A. R. M. ve Yamasaki, S.** (2016). Prevalence and pathogenic potential of *Escherichia coli* isolates from raw milk and raw milk cheese in Egypt. *International Journal of Food Microbiology*, 221, 69-76. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.009
- Pakbin, B., Brück, W. M. ve Rossen, J. W. A.** (2021). Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9922. doi:10.3390/IJMS22189922
- Parham, N. J., Pollard, S. J., Desvaux, M., Scott-Tucker, A., Liu, C., Fivian, A. ve Henderson, I. R.** (2005). Distribution of the serine protease autotransporters of the Enterobacteriaceae among extraintestinal clinical isolates of *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(8), 4076-4082. doi:10.1128/JCM.43.8.4076-4082.2005,
- Pitout, J. D. D.** (2012). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: A combination of virulence with antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 3(JAN), 20728. doi:10.3389/FMICB.2012.00009/BIBTEX
- Poolman, J. T. ve Wacker, M.** (2015). Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*, a Common Human Pathogen: Challenges for Vaccine Development and Progress in the Field. *The Journal of Infectious Diseases*, 213(1), 6. doi:10.1093/INFDIS/JIV429
- Pourzare, M., Derakhshan, S. ve Roshani, D.** (2017). Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from children with urinary tract infection

in Sanandaj, Iran. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*, 5(3).
doi:10.5812/PEDINFECT.41995

- Priyanka, P., Meena, P. R., Raj, D., Rana, A., Dhanokar, A., Duggirala, K. S. ve Singh, A. P.** (2023). Urinary tract infection and sepsis causing potential of multidrug-resistant Extraintestinal pathogenic *E. coli* isolated from plant-origin foods. *International Journal of Food Microbiology*, 386.
doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.110048
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. ve Cotter, P. D.** (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664-698. doi:10.1111/1574-6976.12030
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., FitzPatrick, E. S., Fanning, S., & Hartigan, P. J.** (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- Radera, S., Srivastava, S. ve Agarwal, J.** (2022). Virulence Genotyping and Multidrug Resistance Pattern of *Escherichia coli* Isolated From Community-Acquired and Hospital-Acquired Urinary Tract Infections. *Cureus*, 14(9).
doi:10.7759/CUREUS.29404
- Raeispour, M. ve Ranjbar, R.** (2018). Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of Uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 7(1). doi:10.1186/s13756-018-0411-4
- Rahmani, H. K., Tabar, G. H., Badouei, M. A. ve Khoramian, B.** (2020). Development of three multiplex-PCR assays for virulence profiling of different iron acquisition systems in *Escherichia coli*. *Iranian Journal of Microbiology*, 12(4), 281-288.
doi:10.18502/IJM.V12I4.3930
- Ranjbar, R., Safarpour Dehkordi, F., Sakhaei Shahreza, M. H. ve Rahimi, E.** (2018). Prevalence, identification of virulence factors, O-serogroups and antibiotic resistance properties of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* strains isolated from raw milk and traditional dairy products. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 7(1), 1-11. doi:10.1186/S13756-018-0345-X/FIGURES/2
- Rezatofghi, S. E., Mirzarazi, M. ve Salehi, M.** (2021). Virulence genes and phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infection and uninfected control subjects: a case-control study. *BMC Infectious Diseases*, 21(1). doi:10.1186/S12879-021-06036-4,
- Ribeiro, L. F., Rossi, G. A. M., Sato, R. A., de Souza Pollo, A., Cardozo, M. V., Amaral, L. A. do ve Fairbrother, J. M.** (2024). Epidemiology, Virulence and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Small Brazilian Farms Producers of Raw Milk Fresh Cheese. *Microorganisms*, 12(8), 1739.
doi:10.3390/MICROORGANISMS12081739/S1
- Roberts, I. S.** (1996). The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 50, 285-315.
doi:10.1146/ANNUREV.MICRO.50.1.285,
- Russo, T. A. ve Johnson, J. R.** (2000). Proposal for a New Inclusive Designation for Extraintestinal Pathogenic Isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(5), 1753-1754. doi:10.1086/315418

- Saitou, N. ve Nei, M.** (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425. doi:10.1093/OXFORDJOURNALS.MOLBEVA040454,
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G. ve Choroszy-Krol, I.** (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: Recent reports. *Gut Pathogens*, 11(1), 1-16. doi:10.1186/S13099-019-0290-0/TABLES/5
- Shah, C., Baral, R., Bartaula, B. ve Shrestha, L. B.** (2019). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. *BMC Microbiology*, 19(1). doi:10.1186/S12866-019-1587-3,
- Singer, R. S.** (2015). Urinary tract infections attributed to diverse ExPEC strains in food animals: Evidence and data gaps. *Frontiers in Microbiology*, 6(FEB). doi:10.3389/FMICB.2015.00028,
- Smith, C. J. ve Osborn, A. M.** (2009). Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 67(1), 6-20. doi:10.1111/J.1574-6941.2008.00629.X
- Snyder, J. A., Haugen, B. J., Buckles, E. L., Lockatell, C. V., Johnson, D. E., Donnenberg, M. S., ... Mobley, H. L. T.** (2004). Transcriptome of uropathogenic *Escherichia coli* during urinary tract infection. *Infection and Immunity*, 72(11), 6373-6381. doi:10.1128/IAI.72.11.6373-6381.2004,
- Sora, V. M., Meroni, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L. ve Zecconi, A.** (2021). Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(11). doi:10.3390/PATHOGENS10111355
- Spurbeck, R. R., Dinh, P. C., Walk, S. T., Stapleton, A. E., Hooton, T. M., Nolan, L. K., ... Mobley, H. L. T.** (2012). *Escherichia coli* isolates that carry vat, fyua, chua, and yfcv efficiently colonize the urinary tract. *Infection and Immunity*, 80(12), 4115-4122. doi:10.1128/IAI.00752-12,
- Stanley, P., Koronakis, V. ve Hughes, C.** (1998). Acylation of *Escherichia coli* Hemolysin: A Unique Protein Lipidation Mechanism Underlying Toxin Function . *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(2), 309-333. doi:10.1128/MMBR.62.2.309-333.1998,
- Steenbergen, S. M. ve Vimr, E. R.** (2008). Biosynthesis of the *Escherichia coli* K1 group 2 polysialic acid capsule occurs within a protected cytoplasmic compartment. *Molecular Microbiology*, 68(5), 1252-1267. doi:10.1111/J.1365-2958.2008.06231.X
- Su, Q., Guan, T., He, Y. ve Lv, H.** (2016). Siderophore Biosynthesis Governs the Virulence of Uropathogenic *Escherichia coli* by Coordinately Modulating the Differential Metabolism. *Journal of Proteome Research*, 15(4), 1323-1332. doi:10.1021/ACS.JPROTEOME.6B00061,
- Subashchandrabose, S. ve Mobley, H. L. T.** (2015). Virulence and Fitness Determinants of Uropathogenic *Escherichia coli* . *Microbiology Spectrum*, 3(4). doi:10.1128/MICROBIOLSPEC.UTI-0015-2012/ASSET/456C6EDC-B9E8-4F93-B15A-4C0A3C29A299/ASSETS/GRAPHIC/UTI-0015-2012-FIG3.GIF

- Tamura, K. ve Nei, M.** (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512-526.
doi:10.1093/OXFORDJOURNALS.MOLBEV.A040023,
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B. ve Denamur, E.** (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* 2010 8:3, 8(3), 207-217. doi:10.1038/nrmicro2298
- Tuncay, R. M., Sancak, Y. C., Çakmak, T. ve İşleyici, Ö.** (2022). Van'da Tüketime Sunulan Çiğ Sütlerde Mikrobiyolojik Kalite ve Antibiyotik Varlığı. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 12(1), 53-63.
doi:10.53518/MJAVL.1033318
- Vahedi, M., Nasrolahei, M., Sharif, M. ve Mirabi, A. M.** (2013). Bacteriological study of raw and unexpired pasteurized cow's milk collected at the dairy farms and super markets in Sari city in 2011. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 54(2), 120.
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4718392/> adresinden erişildi.
- Watts, R. E., Totsika, M., Challinor, V. L., Mabbett, A. N., Ulett, G. C., Voss, J. J. D. ve Schembri, M. A.** (2012). Contribution of siderophore systems to growth and urinary tract colonization of asymptomatic bacteriuria *Escherichia coli*. *Infection and immunity*, 80(1), 333-344. doi:10.1128/IAI.05594-11
- Whelan, S., Lucey, B. ve Finn, K.** (2023). Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-Associated Urinary Tract Infections: The Molecular Basis for Challenges to Effective Treatment. *Microorganisms* 2023, Vol. 11, Page 2169, 11(9), 2169.
doi:10.3390/MICROORGANISMS11092169
- Wiles, T. J., Kulesus, R. R. ve Mulvey, M. A.** (2008). Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Experimental and molecular pathology*, 85(1), 11-19. doi:10.1016/J.YEXMP.2008.03.007
- Willett, W. C. ve Ludwig, D. S.** (2020). Milk and health. *The New England Journal of Medicine*, 382(7), 644-654.
doi:10.1056/NEJMRA1903547/SUPPL_FILE/NEJMRA1903547_DISCLOSURES.PDF
- Wiley, J. M. ., Sherwood, Linda., Woolverton, C. J. . ve Prescott, L. M. .** (2017). *Prescott's Microbiology*. McGraw-Hill Education.
- Wright, K. J., Seed, P. C. ve Hultgren, S. J.** (2007). Development of intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* depends on type 1 pili. *Cellular microbiology*, 9(9), 2230-2241. doi:10.1111/J.1462-5822.2007.00952.X
- Yang, X., Chen, H., Zheng, Y., Qu, S., Wang, H. ve Yi, F.** (2022). Disease burden and long-term trends of urinary tract infections: A worldwide report. *Frontiers in Public Health*, 10, 888205. doi:10.3389/FPUBH.2022.888205/BIBTEX
- Yasmeen, K., Chunchanur, S., Nadagir, S. D., LH, H. ve Chandrasekhar, M. R.** (2009). Virulence factors, Serotypes and Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* in Urinary Tract Infections. *Al Ameen J. Med. Sci.* 16 Haziran 2025 tarihinde https://www.researchgate.net/publication/26606157_Virulence_factors_Serotypes_and_Antimicrobial_Susceptibility_Pattern_of_Escherichia_coli_in_Urinary_Tract_Infections adresinden erişildi.

- Yeganeh, M., Hosseini, H., Mehrabian, S., Torbati, E. S. ve Zamir, S. M.** (2017). Antibiofilm Effects of Lactobacilli against Ciprofloxacin-Resistant Uropathogenic Escherichia coli strains in Pasteurized Milk. *Applied Food Biotechnology*, 4(4), 241-250. doi:10.22037/AFB.V4I4.17783
- Younis, W., Hassan, S. ve Mohamed, H. M. A.** (2021). Molecular characterization of Escherichia coli isolated from milk samples with regard to virulence factors and antibiotic resistance. *Veterinary World*, 14(9), 2410-2418. doi:10.14202/VETWORLD.2021.2410-2418,
- Zalewska-Piątek, B., Piątek, R., Olszewski, M. ve Kur, J.** (2015). Identification of antigen Ag43 in uropathogenic escherichia coli Dr+ strains and defining its role in the pathogenesis of urinary tract infections. *Microbiology (United Kingdom)*, 161(Pt 5), 1034-1049. doi:10.1099/MIC.0.000072,
- Zanganeh, F., Rezatofighi, S. E., Roayaei Ardakani, M., Akhoond, M. R. ve Mahmoodi, F.** (2021). Virulence characterization and clonal analysis of uropathogenic Escherichia coli metallo-beta-lactamase-producing isolates. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1). doi:10.1186/S12941-021-00457-4,
- Zhou, Y., Zhou, Z., Zheng, L., Gong, Z., Li, Y., Jin, Y., ... Chi, M.** (2023). Urinary Tract Infections Caused by Uropathogenic Escherichia coli: Mechanisms of Infection and Treatment Options. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol. 24, Page 10537, 24(13), 10537. doi:10.3390/IJMS241310537

EKLER

EK 1

Tüm izolatların antibiyogram sonuçları

			Antibiyotikler																		
No	Süt	Koloni	1.AMP (AM-10)	2.AMI (AK-30)	3.AMC (AMC-30)	4.ASB (SAM-20)	5.CPM (FEP-30)	6.CTX (CTX-80)	7.CAZ (CAZ-30)	8.CRX (CXM-30)	9.CFL (KF-30)	10.CIP (CIP-5)	11.E TP (ETP-10)	12.F OS (FF-200)	13.G EN (CN-10)	14. ME R (ME-M-10)	15.N AL (NA-30)	16.N IT (F-300)	17.N OR (NO-R-10)	18.P PT (TP-Z-110)	19.S UT (SX-T-25)
3	3	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	5	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	7	1.	R	I	R	R	S	R	S	S	R	I	S	S	S	S	I	S	S	R	S
		2.	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
		3.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
6	9	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	10	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	11	1	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
		3	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R
9	15	2.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	16	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	19	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	R	S	R	I	R	R	S	S	R	R	R	S	I	R	R	S	S	S	S	S
12	20	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
13	23	2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
14	24	2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
15	26	2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
16	37	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
17	38	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
18	41	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
19	48	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

20	53	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
21	56	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.Bi yo	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
22	57	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
23	58	1.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
24	59	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
25	62	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
26	63	2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
27	66	1.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
28	68	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
29	69	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	R	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
30	70	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
31	72	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

32	73	1.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S
33	75	1.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
34	76	1.	R	R	S	I	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
35	77	1.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
36	80	1.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
37	81	1.	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
38	90	1.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	
		2.	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
39	94	1.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
40	96	1.	I	S	I	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
		2.	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	I	S	R	
		3.	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	S	I	S	R	
41	97	1.	R	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	I	S	R
		2.	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S

		3.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	S	I	S	R
42	10 2	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
43	10 3	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	R	S	S	I	S	R	S	R	R	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S
44	10 5	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
45	10 6	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
46	10 7	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		3.	R	S	S	S	I	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
47	10 8	2.	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
48	10 9	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
49	11 0	1.	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		2.	S	S	R	R	S	R	S	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S
		3.	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
50	11 1	1.	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
51	11 2	1.	R	R	R	S	S	I	R	I	R	S	S	S	R	S	S	S	S	I	R
		2.	R	R	R	S	S	I	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R
		3.	R	R	R	S	S	I	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R

EK 2

BLAST Analizi Sonuçları

PZR ile elde edilen dizilerin BLAST analizi sonuçlarına göre en çok benzerlik gösterdiği suşlar, benzerlik oranları ve skor değerleri.

Örnek Kodu	En Yakın Eşleşen Suş (Veritabanı İsmi)	% Benzerlik (Identite)	Eşleşme Uzunluğu (bp)	E- değeri	Total Score	Max Score	Accession No	Identities (aynılık)	Gaps
1 SÖ3	<i>E. coli</i> strain STEC310	98.59%	1067 bp	0.0	12973	1875	CP061253.1	1052/1067 (99%)	14/1067 (1%)
3 SÖ5	<i>E. coli</i> strain Huaian 114	99.48%	959 bp	0.0	1738	1738	MN314192.1	954/959 (99%)	5/959 (0%)
4 SÖ5.2	<i>E. coli</i> Strain FR-2	98.93%	932 bp	0.0	1657	1657	DQ411026.1	922/932 (99%)	10/932 (1%)
5 SÖ7	<i>E. coli</i> Strain Mui T4	98.61%	938 bp	0.0	1648	1648	KJ660336.1	925/938 (99%)	13/938 (1%)
6 SÖ7.2	<i>E. coli</i> Strain DPR13	99.37%	947 bp	0.0	1711	1711	MK713895.1	941/947 (99%)	6/947 (0%)
8 SÖ9	<i>E. coli</i> Strain XJ-NF10	98.88%	893 bp	0.0	1585	1585	JQ404468.1	883/893 (99%)	10/893 (1%)
10 SÖ10	<i>Escherichia ruysiae</i> Strain OPT1704(T)	99.25%	938 bp	0.0	1688	1688	PP318615.1	931/938 (99%)	6/938 (0%)
13 SÖ11	<i>Escherichia</i> sp. strain NT S133F	98.55%	896 bp	0.0	1570	1570	PQ119197.1	883/896 (99%)	13/896 (1%)
14 SÖ11.3	<i>E. coli</i> Strain FR-2	99.24%	918 bp	0.0	1650	1650	DQ411026.1	911/918 (99%)	7/918 (0%)
15 SÖ15	<i>Shigella flexneri</i> strain ISEM01	99.03%	932 bp	0.0	1664	1664	MW290510.1	923/932 (99%)	8/932 (0%)
17 SÖ16	<i>Escherichia fergusonii</i> strain WW9-3	98.81%	926 bp	0.0	1639	1639	MW832327.1	915/926 (99%)	11/926 (1%)
19 SÖ16.3	<i>E. coli</i> Strain STEC1080	99.35%	921 bp	0.0	11566	1663	CP061258.1	915/921 (99%)	6/921 (0%)
20 SÖ19	<i>Shigella flexneri</i> gene for	100.00%	954 bp	0.0	1762	1762	AB639118.1	954/954 (100%)	0/954 (0%)
22 SÖ19.3	<i>E. coli</i> Strain DFI-5 16S	99.80%	979 bp	0.0	1796	1796	MZ918988.1	977/979 (99%)	2/979 (0%)
23 SÖ20	<i>E. coli</i> JCM 20377 gene for	99.80%	990 bp	0.0	1816	1816	LC654898.1	988/990 (99%)	1/990 (0%)

25 <i>SÖ20.3</i>	E. coli Strain EC07	99.79%	956 bp	0.0	1755	1755	PP783926. 1	954/956 (99%)	0/956 (0%)
26 <i>SÖ23</i>	E. coli Strain EC07	100.00 %	973 bp	0.0	1797	1797	PQ732936. 1	973/973 (100%)	0/973 (0%)
28 <i>SÖ24</i>	E. coli Strain STEC1024	99.69%	964 bp	0.0	1223 6	1762	CP061264. 1	961/964 (99%)	1/964 (0%)
29 <i>SÖ26.2</i>	E. coli Strain M- KH- ALADEEB- 15	99.90%	953 bp	0.0	1753	1753	PQ097054. 1	952/953 (99%)	1/953 (0%)
30 <i>SÖ26.3</i>	E. coli Strain GZ04- 0086	99.80%	987 bp	0.0	1250 5	1812	CP042336. 1	985/987 (99%)	0/987 (0%)
31 <i>SÖ37</i>	E. coli Strain 61	99.79%	970 bp	0.0	1245 6	1779	CP048326. 1	968/970 (99%)	1/970 (0%)
33 <i>SÖ37.3</i>	E. coli Strain The baby giraffe	99.90%	961 bp	0.0	1768	1768	OQ931882 .1	960/961 (99%)	1/961 (0%)
34 <i>SÖ38</i>	Escherichia fergusonii strain RHB38-C01	99.80%	996 bp	0.0	1231 2	1773	CP057104. 1	994/996 (99%)	2/996 (0%)
36 <i>SÖ38.3</i>	E. coli Strain RHB38-C01	99.49%	978 bp	0.0	1231 2	1773	CP057104. 1	973/978 (99%)	5/978 (0%)
39 <i>SÖ48</i>	E. coli Strain EW2- 81	99.59%	970 bp	0.0	1766	1766	PQ591633. 1	966/970(99%)	3/970(0 %)
44 <i>SÖ56</i>	Citrobacter freundii strain 2953647	99.90 %	971 bp	0.0	1413 7	1788	CP114564. 1	970/971 (99%)	0/971 (0%)
45 <i>SÖ57</i>	E. coli Strain E_coli_K_K 6	99.79 %	970 bp	0.0	1779	1779	KY367388 .1	968/970 (99%)	2/970 (0%)
46 <i>SÖ58</i>	E. coli Strain EC07	99.80%	979 bp	0.0	1796	1796	PP783926. 1	977/979 (99%)	1/979 (0%)
47 <i>SÖ58.2</i>	E. coli Strain 152-a blue	100.00 %	978 bp	0.0	1807	1807	MN20822 8.1	978/978 (100%)	0/978 (0%)
48 <i>SÖ59</i>	E. coli Strain G4	99.39%	984 bp	0.0	1781	1781	FJ949576. 1	978/984 (99%)	4/984 (0%)
49 <i>SÖ62</i>	E. coli Strain BB118	99.47%	949 bp	0.0	1722	1722	OR206256 .1	944/949 (99%)	3/949 (0%)
51 <i>SÖ62.3</i>	E. coli Strain CCFM8333	99.90%	961 bp	0.0	1768	1768	KJ803890. 1	960/961 (99%)	1/961 (0%)
52 <i>SÖ66</i>	E. coli Strain ECO160	99.90%	981 bp	0.0	1066 7	1807	CP186529. 1	980/981 (99%)	0/981 (0%)
54 <i>SÖ68</i>	E. coli Strain YS	100.00 %	980 bp	0.0	1810	1810	MN15345 6.1	980/980 (100%)	0/980 (0%)
56 <i>SÖ68.3</i>	E. coli Strain			0.0					
58 <i>SÖ70.2</i>	E. coli Strain E30	99.69%	981 bp	0.0	1794	1794	MN30569 0.1	978/981 (99%)	2/981 (0%)

59 <i>SÖ70.3</i>	E. coli Strain H- ESBL-133	99.59%	984 bp	0.0	1794	1794	KT153200. 1	980/984 (99%)	3/984 (0%)
60 <i>SÖ72</i>	E. coli Strain EB18	100.00 %	950 bp	0.0	1755	1755	OR263825 .1	950/950 (100%)	0/950 (0%)
61 <i>SÖ72.2</i>	E. coli Strain TR_AVFP-2	99.49%	985 bp	0.0	1237 4	1788	CP110096. 1	980/985 (99%)	3/985 (0%)
63 <i>SÖ73</i>	Shigella boydii strain Y5	99.90%	960 bp	0.0	1768	1768	OQ834562 .1	959/960 (99%)	0/960 (0%)
66 <i>SÖ75</i>	E. coli Strain AUMC B- 521	100.00 %	982 bp	0.0	1814	1814	OR064346 .1	982/982 (100%)	0/982 (0%)
67 <i>SÖ75.2</i>	E. coli Strain t2.2	99.80%	983 bp	0.0	1803	1803	MK87841 8.1	981/983 (99%)	2/983 (0%)
69 <i>SÖ76</i>	E. coli Strain YJ13	99.80%	983 bp	0.0	1803	1803	OP762760. 1	981/983 (99%)	2/983 (0%)
70 <i>SÖ76.2</i>	E. coli Strain 33	99.59%	985 bp	0.0	1794	1794	MH67141 6.1	981/985 (99%)	4/985 (0%)
73 <i>SÖ77</i>	Pseudomona s sp. strain HBUM2000 04	92.43%	912 bp	0.0	1291	1291	KY945782 .1	843/912 (92%)	11/912 (1%)
75 <i>SÖ80</i>	Escherichia fergusonii strain V9251	99.90%	959 bp	0.0	1766	1766	PQ396621. 1	958/959 (99%)	0/959 (0%)
81 <i>SÖ90</i>	E. coli Strain DP051	99.70%	985 bp	0.0	1252 0	1801	CP156034. 1	982/985 (99%)	2/985 (0%)
83 <i>SÖ90.3</i>	E. coli Strain R44	99.90%	988 bp	0.0	1820	1820	PP593527. 1	987/988 (99%)	0/988 (0%)
84 <i>SÖ94</i>	E. coli Strain Rizhao_480_ 2	99.49%	981 bp	0.0	1781	1781	MN31422 8.1	976/981 (99%)	4/981 (0%)
86 <i>SÖ94.3</i>	E. coli Strain R79	99.58%	947 bp	0.0	1724	1724	PP593562. 1	943/947 (99%)	3/947 (0%)
87 <i>SÖ96</i>	E. coli Strain 83-a pink	99.80%	992 bp	0.0	1820	1820	MN20817 3.1	990/992 (99%)	1/992 (0%)
88 <i>SÖ96.2</i>	Citrobacter freundii partial	98.07%	828 bp	0.0	1441	1441	FN997615. 1	812/828 (98%)	1/828 (0%)
90 <i>SÖ97</i>	Stenotropho monas maltophilia strain SM 866	90.01%	921 bp	0.0	4622	1181	CP031058. 1	829/921 (90%)	12/921 (1%)
91 <i>SÖ97.2</i>	Pseudomona s sp. strain HBUM2000 20	92.22%	874 bp	0.0	1236	1236	KY945783 .1	806/874 (92%)	1/874 (0%)
93 <i>SÖ102</i>	E. coli Strain ZY220113	99.69%	980 bp	0.0	1790	1790	OP278851. 1	977/980 (99%)	3/980 (0%)
96 <i>SÖ103. 1</i>	E. coli Strain CAU7943	99.90%	988 bp	0.0	1818	1818	MF425108 .1	987/988 (99%)	1/988 (0%)

97 <i>SÖ103.2</i>	E. coli Strain CAU7943	99.90%	988 bp	0.0	1818	1818	MF425108.1	987/988 (99%)	1/988 (0%)
98 <i>SÖ103.3</i>	Bacillus sp. (in: Bacteria) BR3S-8 gene for	84.93%	73 bp	1e-05	65.8	65.8	LC511733.1	62/73 (85%)	9/73 (12%)
99 <i>SÖ105</i>	E. coli Strain GZ04-0086	100.00%	983 bp	0.0	12598	1816	CP042336.1	983/983 (100%)	0/983 (0%)
101 <i>SÖ105.3</i>	E. coli Strain MCS2	99.80%	987 bp	0.0	1810	1810	OP104327.1	985/987 (99%)	1/987 (0%)
102 <i>SÖ106</i>	Escherichia sp. strain SCU-B2	99.80%	980 bp	0.0	1797	1797	MN211527.1	978/980 (99%)	2/980 (0%)
105 <i>SÖ107</i>	E. coli Strain B1W1	99.90%	981 bp	0.0	12397	1805	CP117720.1	980/981 (99%)	1/981 (0%)
106 <i>SÖ107.3</i>	Escherichia coli strain R1Q1	100.00%	981 bp	0.0	1812	1812	OR686182.1	981/981 (100%)	0/981 (0%)
107 <i>SÖ108</i>	Shigella flexneri strain EC36	99.90%	977 bp	0.0	1797	1797	OK033425.1	976/977 (99%)	1/977 (0%)
108 <i>SÖ109</i>	E. coli Strain NF73_29	100.00%	988 bp	0.0	1825	1825	MT649805.1	988/988 (100%)	0/988 (0%)
109 <i>SÖ110</i>	Citrobacter sp. strain E9-3	97.72%	964 bp	0.0	1659	1659	KY938131.1	942/964 (98%)	2/964 (0%)
110 <i>SÖ110.2</i>	Citrobacter sp. strain E9-3	98.23%	960 bp	0.0	1679	1679	KY938131.1	943/960 (98%)	2/960 (0%)
112 <i>SÖ111</i>	E. coli Strain B1W1	99.80%	988 bp	0.0	12413	1812	CP117720.1	986/988 (99%)	2/988 (0%)
113 <i>SÖ112</i>	E. coli Strain ECCHD184	99.90%	989 bp	0.0	12651	1820	CP033250.1	988/989 (99%)	1/989 (0%)
114 <i>SÖ112.2</i>	E. coli Strain B1W1	99.80%	985 bp	0.0	12397	1807	CP117720.1	983/985 (99%)	2/985 (0%)

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad :Aynur AKAN

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** :2018-2022 İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
- **Yüksek Lisans** : İnönü Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı

MESLEKİ DENEYİM:

2024–2025 yılları arasında özel bir eğitim kurumunda biyoloji öğretmeni olarak görev almış bulunmaktayım.

YAYINLAR:

Akan, A., Yıldırım, S. C., & Yıldırım, İ. H. (2024). Exosomes Derived from Stem Cells: Current Status and Future Perspectives. Current Studies in Science and Mathematics (Ed. Prof. Oktay Talaz, Ph.D. Assoc. Prof. Aykut Demirçalı, Ph.D), ss. 91-119. Platanus Publishing. ISBN: 978-625-6454-66-8

KONGRE VE ETKİNLİKLER:

S. Cing Yıldırım, A. Akan, S. Bingül & I. Gökbulut, Microbiological And Physicochemical Evaluation Of Dried Biscuit And Cracker Products Of Young Children, International Aegean Symposiums Natural & Medical Sciences-VI, Bildiri Kitabı, 252-260, 29-31 Aralık 2022, İzmir/Türkiye