

ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

IRAK'IN GÜNEY BÖLGELERİNDEKİ HASTALARDA ÇOKLU İLACA
DİRENÇLİ BAKTERİLERİN NEDEN OLDUĞU İDRAR YOLU
ENFEKSİYONLARI İLE TLR4 GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Akram Radhi Salim AL-ZEHERE

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2024

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Akram Radhi Salim AL-ZEHERE tarafından hazırlanan “**Irak'ın Güney Bölgelerindeki Hastalarda Çoklu İlaça Dirençli Bakterilerin Neden Olduğu İdrar Yolu Enfeksiyonları İle TLR4 Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişki**” adlı tez çalışması 09/07/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Eş Danışman : Dr. Öğr.Üyesi Mohammed Mousa Atta AL-FAYADH

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç.Dr. İlkay ÇORAK ÖCAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Efehan ULAŞ
Biyoistatistik ve Temel Tıp Bilişimi Anabilim Dalı
Kırklareli Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Neslihan BAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Gazi Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **“Irak'ın Güney Bölgelerindeki Hastalarda Çoklu İlaça Dirençli Bakterilerin Neden Olduğu İdrar Yolu Enfeksiyonları İle TLR4 Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişki”** konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (09/07/2024).

Akram Radhi Salim AL-ZEHERE

ÖZET

Doktora Tezi

IRAK'TIN GÜNEY BÖLGELERİNDEKİ HASTALARDA ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ BAKTERİLERİN NEDEN OLDUĞU İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARI İLE TLR4 GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Akram Radhi Salim AL-ZEHERE

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mohammed Mousa Atta AL-FAYADH

Çalışmamızda, fonksiyonel gen polimorfizmleri (TLR4 rs7873784 ve TLR4-rs11536889) ile idrar yolu enfeksiyonlarında (İYE) çoklu ilaca dirençli (ÇİD) bakteri geliştirme duyarlılığı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, Temmuz 2022 ile Ocak 2023 tarihleri arasında Irak'ın güneyindeki Thi-Qar vilayetinde bulunan Al-Rifai Genel Hastanesi'nden yaşları 10 ile 75 arasında değişen kadın ve erkeklerden toplam 350 idrar örneği toplanmıştır. Toplanan 150 (%42,9) örnek bakteri üreme kültürü için pozitif sonuç gösterirken, 200 (%57,1) örnek bakteri üreme kültürü için negatif sonuç göstermiştir. İdrar yolu enfeksiyonlarında çoklu ilaca dirençli bakterilerden muzdarip hastaların cinsiyetinin frekans dağılımında kadınlar (%67) erkeklerden (%33) daha yüksek değerlere sahip olmuştur. İYE'ye neden olan ÇİD bakteriyel patojenleri; 44(%44) *Escherichia coli*, 33(%33) *Staphylococcus aureus*, 10(%10) *Klebsiella pneumoniae* ve 13(%13) *Proteus mirabilis* olarak sıralanmıştır. Ayrıca, BlaCTX-M geni *E. coli*'de 36 (%81,8), *K. pneumoniae*'da 10 (%100,0) ve *P. mirabilis*'te 4 (%30,8), BlaSHV geni *E. coli*'de 13 (%29,5), *K. pneumoniae*'da 10 (%100,0) ve *P. mirabilis*'te 13 (%100,0), BlaAMPC geni *E. coli*'de 40 (%90,9), *K. pneumoniae*'da 10 (%100,0) ve *P. mirabilis*'te 4 (%30,8), BlaTEM geni tüm gram-negatif bakteri izolatlarında ve son olarak mecA, ermA ve ermC genleri *S.aureus* izolatlarının tamamında 33 (%100,0) görülmüştür. İdrar yolu enfeksiyonu olan hastalar ve sağlıklı kontroller arasında TLR4-rs7873784 SNP ve TLR4-rs11536889 SNP genotipleri ve alellerinin karşılaştırılmasında, homozigot CC ve heterozigot GC genotiplerinin önemli risk faktörleri olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler, homozigot CC ve GC genotiplerine sahip hastalarda diğer genotiplere kıyasla hastalık gelişme olasılığının daha yüksek olduğunu göstermiştir.

2024, 149 sayfa

ANAHTAR KELİMELELER: Gen polimorfizm, Çoklu ilaç direnci, TLR4, İYE

ABSTRACT

PhD Thesis

THE ASSOCIATION BETWEEN TLR4 GENE POLYMORPHISM AND URINARY TRACT INFECTIONS CAUSED BY MULTIDRUG RESISTANT BACTERIA AMONG IRAQI PATIENTS IN SOUTH REGIONS

Akram Radhi Salim AL-ZEHERE

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Mohammed Mousa Atta AL-FAYADH

The aim of this study was to evaluate the relationship between functional gene polymorphisms (TLR4 rs7873784 and TLR4- rs11536889) and susceptibility to develop multidrug-resistant (MDR) bacteria in urinary tract infections (UTIs). For this purpose, a total of 350 urine samples were collected from men and women aged between 10 and 75 years from Al-Rifai General Hospital in Thi-Qar province in southern Iraq between July 2022 and January 2023. While 150 (42.9%) of the collected samples showed positive results for bacterial growth culture, 200 (57.1%) samples showed negative results for bacterial growth culture. In the frequency distribution of the gender of patients suffering from multidrug-resistant bacteria in urinary tract infections, females (67%) had higher values than males (33%). The MDR bacterial pathogens causing UTI were *Escherichia coli* (44%), *Staphylococcus aureus* (33%), *Klebsiella pneumoniae* (10%) and *Proteus mirabilis* (13%). In addition, BlaCTX-M gene was 36 (81.8%) in *E. coli*, 10 (100.0%) in *K. pneumonia* and 4 (30.8%) in *P. mirabilis*, BlaSHV gene was 13 (29.5%) in *E. coli*, 10 (100.0%) in *K. pneumonia* and 13 (100.0%) in *P. mirabilis*, BlaAMPC gene was 40 (90.9%) in *E. coli*, 10 (100%) in *K. pneumonia* 10 (100.0%) and *P. mirabilis* 4 (30.8%), BlaTEM gene was found in all gram-negative bacterial isolates and finally *mecA*, *ermA* and *ermC* genes were found in 33 (100.0%) *S. aureus* isolates. In the comparison of TLR4-rs7873784 SNP and TLR4-rs11536889 SNP genotypes and alleles between patients with urinary tract infections and healthy controls, homozygous CC and heterozygous GC genotypes were found to be significant risk factors. These data showed that patients with homozygous CC and GC genotypes were more likely to develop the disease compared to other genotypes.

2024, 149 pages

Keywords: Gen polymorphism, Multiple drug resistance, TLR4, UTI

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Prof. Dr. Seil AKILLI ŞİMŞEK ve eő danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mohammed Mousa Atta AL-FAYADH’a sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Akram Radhi Salim AL-ZEHERE

ankırı, Temmuz 2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1 İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE)	4
2.2 İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Sınıflandırılması.....	5
2.2.1 Komplike idrar yolu enfeksiyonu.....	5
2.2.2 Komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonu	7
2.3 İdrar yolu Enfeksiyonlarının Enfeksiyon Bölgesine Göre Sınıflandırılması.....	8
2.3.1 Alt idrar yolu (Mesane enfeksiyonu)	8
2.3.2 Üst idrar yolu (Piyelonefrit).....	8
2.4 İYE'lerin Klinik Belirtileri	8
2.4.1 Sistit.....	8
2.4.2 Üretrit	9
2.4.3 Prostatit	10
2.4.4 Akut ve kronik piyelonefrit.....	10
2.4.5 Renal apseler	11
2.5 İYE Patogenezi	11
2.6 Risk Faktörleri	12
2.7 İYE Prevalansı ve Epidemiyolojisi	13
2.8 İYE'nin Etiyolojik Ajanı.....	13
2.8.1 İYE'lere neden olan gram pozitif bakteriler	14
2.8.2 İYE'lere neden olan gram negatif bakteriler	16
2.9 Çoklu İlaç Direnci (MDR).....	18

2.9.1 Çoklu ilaç direnci (MDR) gram-pozitif bakteriler	19
2.9.2 Çoklu ilaç dirençli (MDR) gram-negatif bakteriler	21
2.10 İYE'ye Neden Olan Bakterileri Kodlayan Genler	23
2.10.1 <i>mecA</i> geni	23
2.10.2 <i>ermA</i> ve <i>ermB</i> genleri	23
2.10.3 TEM β -laktamaz	24
2.10.4 SHV β -laktamaz	24
2.10.5 CTX-M β -laktamazlar	25
2.10.6 AmpC β -laktamaz	25
2.10.7 Antimikrobiyal ajanların etki mekanizmaları	26
2.11 Bağışıklık ve İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Moleküler Genetiği	27
2.11.1 Bağışıklık.....	27
2.11.2 Toll benzeri reseptörler (TLR)	30
2.11.3 TLR4 sinyal yolu	31
2.12 Laboratuvar İncelemeleri	33
2.12.1 İdrar numunesi kültürü.....	33
2.12.2 Biyokimyasal inceleme.....	33
2.12.3 Moleküler teşhis	34
3. MATERYAL VE METOT	36
3.1 Materyal	36
3.1.1 Ekipman ve cihazlar	36
3.1.2 Kimyasal ve biyolojik materyaller	37
3.1.3 Kültür ortamı	37
3.1.4 Çözelti ve reaktifler	38
3.2 Kitler.....	39
3.2.1 PCR bakteriyel DNA ekstraksiyonu	39
3.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu primerleri.....	39
3.2.3 Tetra-ARMS-PCR primerleri	41
3.3 Yöntem	42
3.3.1 Çalışma düzeni	42
3.3.2 İdrar numunelerinin toplanması.....	42
3.3.3 Tam kan numunelerinin toplanması.....	43

3.3.4 Mikroskopik muayene ve biyokimyasal test	43
3.4 Mikrobiyolojik Teşhis.....	43
3.4.1 Kanlı agar besiyeri.....	43
3.4.2 Mannitol tuz agar besiyeri	44
3.4.3 MacConkey agar besiyeri.....	44
3.4.4 Beyin kalp infüzyon broth ortamı	44
3.5 Gram Boyama	45
3.6 Biyokimyasal Testler.....	45
3.6.1 İndol üretim testi.....	45
3.6.2 Metil kırmızısı testi	46
3.6.3 Voges-proskauer testi	46
3.6.4 Katalaz testi.....	47
3.6.5 Üreaz testi	47
3.6.6 Koagülaz testi (Topaklanma faktörü).....	48
3.7 Tanımlama ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testi için Vitek2 Sistemi.....	48
3.7.1 Test kartı kurulum prosedürü (ID kartı ve AST kartı)	48
3.7.2 Antimikrobiyal duyarlılık testi.....	49
3.8 Bakterilerin Saklanması	49
3.9 Moleküler Yöntemler	50
3.9.1 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	50
3.9.2 PCR master karışımının hazırlanması	52
3.9.3 Multiplex PCR ana karışımının hazırlanması	52
3.9.4 PCR thermocycler koşulları	54
3.9.5 PCR ürün analizi	54
3.9.6 Tetra-ARMS-PCR yöntemi	55
3.9.7 T-ARMS-PCR ana karışımın hazırlanması	57
3.9.8 PCR koşulları.....	58
3.9.9 T-ARMS-PCR ürün analizi	58
3.10 Direnç Genlerinin Dizi ve Filogenetik Analizi.....	59
3.11 İstatistiksel Analiz	59
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	60
4.1 Bakteri İzolasyonu	60

4.2 İdrardan Bakteri İzolasyonunun Tanımlanması	61
4.3 Gram Pozitif ve Gram Negatif ÇİD Bakterilerin Gram Boyamasına göre Frekans Dağılımı.....	65
4.4 İYE Nedenli ÇİD Bakteriyel Hastaların Demografik Özellikleri.....	66
4.5 Antibiyotik Duyarlılığı.....	67
4.6 Bakteri Örneklerinde İlaç Direnci Türü.....	70
4.7 <i>S. aureus</i> 'un <i>mecA</i> , <i>ermA</i> ve <i>ermC</i> Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Tespiti.....	72
4.8 Gram Negatif Bakteri Türlerinin BlaCTX-M, BlaSHV, BlaTEM ve BlaAMPC Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Tespiti	74
4.9 Gen Polimorfizmlerinin Tespiti	77
4.10 TLR4-rs7873784 Polimorfizminin Tespiti.....	79
4.10.1 Hardy Weinberg denklemi (TLR4-rs7873784)	80
4.10.2 Hastalarda ve sağlıklı kontrollerde çalışılan gen için genotipik ve alel analizi	80
4.10.3 İdrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda sosyo-demografik özelliklere göre ARMS-PCR bulgularının karşılaştırılması	81
4.10.4 Genotipin bakteri türlerine göre frekans dağılımı.....	82
4.11 TLR4-rs11536889 Polimorfizminin Tespiti.....	85
4.11.1 Hardy Weinberg denklemi (TLR4-rs11536889)	86
4.11.2 Hastalarda ve sağlıklı kontrollerde çalışılan gen için genotipik ve alel analizi	87
4.11.3 İdrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda sosyo-demografik özelliklere göre ARMS-PCR bulgularının karşılaştırılması	88
4.11.4 Genotipin bakteri türlerine göre frekans dağılımı.....	88
4.12 Yerel İYE Gram Pozitif Bakteri İzolatında (<i>Staphylococcus aureus</i>) Antibiyotik Direnç Genlerinin DNA Dizi Analizi.....	95
4.13 Yerel İYE Gram Negatif Bakteri İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin DNA Sekans Analizi.....	102
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	114
KAYNAKLAR	116
ÖZGEÇMİŞ.....	148

SİMGELER DİZİNİ

g	Gram
psi	İnç kare başına basınç
CFU	Koloni oluşturan birimler
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
s	Saniye
°C	Santigrat derece
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

AmpC	Ambler C sınıfı
ARMS-PCR	Amplifikasyon-refrakter mutasyon sistemi-PCR
AST	Antimikrobiyal duyarlılık testi
AST-GN	Antimikrobiyal duyarlılık testi-gram negatif
AST-GP	Antimikrobiyal duyarlılık testi-gram pozitif
bp	Baz çifti
MDR	Çoklu ilaç direnci
DNA	Deoksi ribonükleik asit
<i>ermA</i>	Eritromisin ribozom metilaz
ESβLs	Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz
GUE	Genel idrar muayenesi
DAMPs	Hasarla ilişkili moleküler kalıplar
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
TEM	İzole edilen ilk hastanın adını taşıyan β-Laktamaz
<i>mecA</i>	Metasiline dirençli gen
MRSA	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
PAMPs	Patojenle ilişkili moleküler kalıplar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDR	Pandrug direnci
CTX-M	Sefotaksimaz (sefotaksim üzerinde aktif β-Laktamaz)
SHV	Sülfhidril değişken β-laktamaz
SNPs	Tek nükleotid polimorfizmleri
TLRs	Toll benzeri reseptörler
UV	Ultra viole
NCBI	Ulusal biyoteknoloji bilgi merkezi
XDR	Yaygın ilaç direnci

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 İdrar yolu enfeksiyonunun patogenezi (Mansfield <i>et al.</i> 2022).....	12
Şekil 2.2 Gram-pozitif bakterilerin direnç mekanizmaları (Jubeh <i>et al.</i> 2020)	21
Şekil 2.3 Gram-negatif bakterilerin yapısı ve direnç mekanizmaları (Breijyeh <i>et al.</i> 2020).....	22
Şekil 3.1 İndol üretim testi.....	45
Şekil 3.2 Metil kırmızısı testi.....	46
Şekil 3.3 Voges-proskauer testi ve Metil kırmızısı testi	46
Şekil 3.4 Katalaz testi	47
Şekil 3.5 Üreaz testi	47
Şekil 3.6 Tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testi için Vitek 2 sistemi	49
Şekil 3.7 Termo bilimsel nanodrop.....	52
Şekil 3.8 PCR çalışmaları	55
Şekil 4.1 Bakteri üreme sonuçları.....	60
Şekil 4.2 İdrar yolu enfeksiyonu PCR tanısına göre ÇİD bakteri yüzdeleri.....	62
Şekil 4.3 <i>Escherichia coli</i> izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	62
Şekil 4.4 <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü	63
Şekil 4.5 <i>Proteus mirabilis</i> izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü	63
Şekil 4.6 <i>Klebsiella pneumoniae</i> izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü	64
Şekil 4.7 İdrar yolu enfeksiyonunda ÇİD bakteri izolatlarının gram boyasına göre yüzdeleri	65
Şekil 4.8 <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarında beta laktam antibiyotik direnç genlerinin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü	73
Şekil 4.9 <i>Escherichia coli</i> izolatlarında beta laktam antibiyotik direnç genlerinin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü	75
Şekil 4.10 <i>Proteus mirabilis</i> izolatlarında beta laktam antibiyotik direnç genlerinin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü	75
Şekil 4.11 <i>Klebsiella pneumoniae</i> izolatlarında beta laktam antibiyotik direnç genlerinin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü	76
Şekil 4.12 LR4 rs7873784 G/C gen polimorfizmi için T-ARMS-PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	79
Şekil 4.13 TLR4 rs11536889 G/C gen polimorfizmi için T-ARMS-PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü	86
Şekil 4.14 Yerel <i>Staphylococcus aureus</i> IQSA izolatu ve NCBI-Genbank <i>Staphylococcus aureus</i> Metisiline dirençli <i>mecA</i> ile ilişkili izolatlarda Metisiline dirençli <i>mecA</i> geninin çoklu dizi hizalama analizi	96

Şekil 4.15 Genetik analiz için kullanılan yerel <i>Staphylococcus aureus</i> suşu IQ izolatında Metisiline dirençli <i>mecA</i> geni kısmi sekansına dayalı filogenetik ağaç analizi	97
Şekil 4.16 Yerel <i>Staphylococcus aureus</i> IQSA izolatı ve NCBI-Genbank <i>Staphylococcus aureus</i> Metisiline dirençli <i>mecA</i> ile ilişkili izolatlarda eritromisin direnç proteini alt birimi A (<i>ermA</i>) geninin çoklu dizi hizalama analizi.....	98
Şekil 4.17 Genetik analiz için kullanılan yerel <i>Staphylococcus aureus</i> suşu IQ izolatında eritromisin direnç proteini alt ünite A (<i>ermA</i>) gen kısmi dizisine dayalı filogenetik ağaç analizi.....	99
Şekil 4.18 Yerel <i>Staphylococcus aureus</i> IQSA izolatı ve NCBI-Genbank <i>Staphylococcus aureus</i> Metisiline dirençli <i>mecA</i> ile ilişkili izolatlarda eritromisin direnç proteini alt birimi C (<i>ermC</i>) geninin çoklu dizi hizalama analizi	100
Şekil 4.19 Genetik analiz için kullanılan yerel <i>Staphylococcus aureus</i> suşu IQ izolatında eritromisin direnç proteini alt ünite C (<i>ermC</i>) gen kısmi sekansına dayalı filogenetik ağaç analizi.....	101
Şekil 4.20 Yerel <i>Escherichia coli</i> IQEC, <i>Proteus mirabilis</i> IQPM ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP izolatlarında ve NCBI-Genbank blaCTX-M ile ilişkili izolatlarda A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaCTX-M) geninin çoklu dizi hizalama analizi	103
Şekil 4.21 Genetik analiz için kullanılan yerel <i>Escherichia coli</i> IQEC, <i>Proteus mirabilis</i> IQPM ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP'deki A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaCTX-M) gen kısmi dizisine dayalı filogenetik ağaç analizi	104
Şekil 4.22 Yerel <i>Escherichia coli</i> IQEC, <i>Proteus mirabilis</i> IQPM ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP ve NCBI-Genbank blaSHV ile ilişkili izolatlarda A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaSHV) geninin çoklu dizi hizalama analizi	105
Şekil 4.23 Genetik analiz için kullanılan yerel <i>Escherichia coli</i> IQEC, <i>Proteus mirabilis</i> IQPM ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP izolatlarında A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaSHV) genine dayalı filogenetik ağaç analizi	106
Şekil 4.24 Yerel <i>Escherichia coli</i> IQEC, <i>Proteus mirabilis</i> IQPM ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP ve NCBI-Genbank blaTEM ile ilişkili izolatlarda A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaTEM) geninin çoklu dizi hizalama analizi	107
Şekil 4.25 Genetik analiz için kullanılan yerel <i>Escherichia coli</i> IQEC, <i>Proteus mirabilis</i> IQPM ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP izolatlarında A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaTEM) gen kısmi dizisine dayalı filogenetik ağaç analizi	108

Şekil 4.26 Yerel <i>Escherichia coli</i> IQEC, <i>Proteus mirabilis</i> IQPM ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP ve NCBI-Genbank blaTEM ile ilişkili izolatlarda A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaTEM) geninin çoklu dizi hizalama analizi	109
Şekil 4.27 Genetik analiz için kullanılan yerel <i>Escherichia coli</i> IQEC, <i>Proteus mirabilis</i> IQPM ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP'deki A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaAMPC) gen kısmi dizisine dayalı filogenetik ağaç analizi	110



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Gram pozitif bakterilerin taksonomik sınıflandırması (Jawetz <i>et al.</i> 2013)	14
Çizelge 2.2	<i>Enterobacteriaceae</i> 'nın taksonomik sınıflandırması	16
Çizelge 3.1	Çalışmada kullanılan ekipman ve cihazlar	36
Çizelge 3.2	Kimyasallar ve biyolojik materyaller	37
Çizelge 3.3	Kültür ortamı.....	37
Çizelge 3.4	Çalışmada kullanılan PCR tespit kitleri.....	39
Çizelge 3.5	Nükleotid dizileri ve ürün boyutlarıyla birlikte PCR primerleri.....	40
Çizelge 3.6	Gram pozitif bakterilerle ilgili beta laktam antibiyotik direnç genleri PCR primerleri, nükleotid dizileri ve ürün boyutları.....	40
Çizelge 3.7	Gram negatif bakterilerle ilgili beta laktam antibiyotik direnç genleri PCR primerleri, nükleotid dizileri ve ürün boyutları.....	40
Çizelge 3.8	TLR4 rs7873784 gen polimorfizmi için Tetra-ARMS-PCR Primerleri, dizileri ve amplikon boyutları.....	41
Çizelge 3.9	TLR4 rs11536889 gen polimorfizmi için Tetra-ARMS-PCR Primerleri, dizileri ve amplikon boyutları.....	41
Çizelge 3.10	Standart PCR ana karışım protokolü.....	52
Çizelge 3.11	Standart multipleks Gram negatif antibiyotik direnç genleri PCR ana karışım protokolü.....	53
Çizelge 3.12	Standart multipleks Gram pozitif antibiyotik direnç genleri PCR ana karışım protokolü.....	53
Çizelge 3.13	PCR thermocycler koşulları	54
Çizelge 3.14	TLR4 rs11536889 T-ARMS-PCR reaksiyon karışımı	57
Çizelge 3.15	TLR4 rs7873784 ARMS-PCR reaksiyon karışımı	57
Çizelge 3.16	TLR4 rs11536889 için PCR thermocycler koşulları	58
Çizelge 3.17	TLR4 rs7873784 için PCR thermocycler koşulları	58
Çizelge 4.1	İdrar yolu enfeksiyonuna neden olan ÇİD bakterili hastaların demografik özellikleri.....	66
Çizelge 4.2	<i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarının seçilmiş antibiyotiklerle duyarlılık testi.....	68
Çizelge 4.3	<i>Escherichia coli</i> izolatlarının seçilmiş antibiyotiklerle duyarlılık testi	68
Çizelge 4.4	<i>Klebsiella pneumonia</i> izolatlarının seçilmiş antibiyotiklerle duyarlılık testi.....	69
Çizelge 4.5	<i>Proteus mirabilis</i> izolatlarının seçilmiş antibiyotiklerle duyarlılık testi ...	69
Çizelge 4.6	Bakteri örneklerinde ilaç direnci türleri.....	71
Çizelge 4.7	<i>S. aureus</i> 'un <i>mecA</i> , <i>ermA</i> ve <i>ermC</i> genlerinin tespiti.....	72
Çizelge 4.8	Gram negatif bakteri türlerinde BlaCTX-M, BlaSHV, BlaTEM ve BlaAMPC genlerinin tespiti.....	74
Çizelge 4.9	Hardy Weinberg denklemi (TLR4-rs7873784)	80

Çizelge 4.10 Hastalarda ve sağlıklı kontrollerde TLR4-rs7873784 poli genotip sıklığı	81
Çizelge 4.11 İdrar yolu enfeksiyonu olan hastaların sosyo-demografik özelliklerinin frekans dağılımının ARMS-PCR sonuçlarına göre karşılaştırılması	81
Çizelge 4.12 Genotip frekans dağılımının bakteri türlerine göre karşılaştırılması	82
Çizelge 4.13 Weinberg denklemi (TLR4-rs11536889)	86
Çizelge 4.14 Hastalarda ve sağlıklı kontrollerde TLR4-rs11536889 poli genotip sıklığı	87
Çizelge 4.15 İdrar yolu enfeksiyonu olan hastaların sosyo-demografik özelliklerinin frekans dağılımının ARMS-PCR sonuçlarına göre karşılaştırılması	88
Çizelge 4.16 Bakteri türlerine göre genotip frekans dağılımının karşılaştırılması	88
Çizelge 4.17 Yerel <i>Staphylococcus aureus</i> IQSA izolatı için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi	101
Çizelge 4.18 A Sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaCTX-M) geni için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi	110
Çizelge 4.19 A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaSHV) geni için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi	111
Çizelge 4.20 A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaTEM) geni için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi	111
Çizelge 4.21 A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaAMPC) geni için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi	111

1. GİRİŞ

İdrar yolu enfeksiyonu (İYE), mesaneyi ve üretrayı etkileyen bir enfeksiyondur. İYE'ler komplike olmayan veya komplike olarak sınıflandırılır. Komplike olmayan İYE'ler (sistit ve piyelonefrit), idrar yollarında yapısal veya nörolojik anormalliklerin olmadığı sağlıklı kişileri etkilemektedir. Komplike idrar yolu enfeksiyonları ise idrar yolu tıkanıklığı, idrar retansiyonu, immünosupresyon, böbrek yetmezliği, hamilelik, kalıcı kateterler veya diğer drenaj cihazları gibi idrar yolunu veya konak savunmasını tehlikeye atan faktörlerle ilişkilidir (Flores-Mireles *et al.* 2015). Dünya'da yılda yaklaşık 150 milyon insan İYE'lerden etkilenmektedir (Bruxvoort *et al.* 2020) İYE'ler, asemptomatik veya semptomatik bakteriüri ve akut, kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlar dahil olmak üzere farklı hastalık türlerinin nedenidir (Klein and Hultgren 2020).

Yapılan çalışmalarda, İYE'lere neden olan en yaygın bakteriler *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* spp. ve *Proteus* spp. olarak belirlenmiştir. Ancak bu bakterilerin hastalarda görülme sıklıkları arasında farklılıklar bulunmaktadır (Sargiary *et al.* 2016). Çoklu ilaç direnci (MDR), bir mikroorganizma türü tarafından üç veya daha fazla antimikrobiyal kategoride en az bir antimikrobiyal ilaca karşı gösterilen antimikrobiyal direnç olarak tanımlanmaktadır (Magiorakos *et al.* 2012). Özellikle çoklu ilaca dirençli (ÇİD) mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar, ciddi miktarlarda klinik ve ekonomik yüke sahip olduğundan, dünya çapında önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir (Kadri *et al.* 2021).

ÇİD mikroorganizmalar hem toplum kaynaklı hem de sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonlarda artan bir İYE nedenidir ve bu da daha yüksek oranda tedavi başarısızlığına yol açabilir (Naziri *et al.* 2020). İdrar yolu enfeksiyonları çoğunlukla antimikrobiyal ajanlara karşı artan dirençle ilişkilidir Bakterilerde çoklu ilaç direncinin ortaya çıkması, kültür duyarlılık testi yapılmadan sık ve gelişigüzel antibiyotik kullanımına bağlanabilir (Adamus-Białek *et al.* 2018). *Staphylococcus aureus* yaygın bir Gram-pozitif koktur ve günümüzde hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların önde gelen patojenlerinden biridir. Sıklıkla pnömoni, sepsis, İYE, deri ve yumuşak doku

enfeksiyonları, endokardit, osteomyelit ve protez eklem enfeksiyonlarına neden olur. Yüksek insidans ve mortalite oranına sahiptir (Cheung *et al.* 2021) *S. aureus* insanlarda farklı enfeksiyonlara neden olur ve birçok antibiyotiğe karşı direnç geliştirebilir (Moges *et al.* 2003). Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları, çoğu β -laktam antibiyotik için düşük bağlanma afinitesine sahip alternatif bir trans-peptidaz olan Penisilin Bağlayıcı Protein 2a'yı (PBP2a) kodlayan *mecA* genini barındırmaktadır. Bu nedenle, sadece metisiline değil, aynı zamanda geniş spektrumlu β -laktam antibiyotik ailesinin tüm üyelerine karşı direnç üretir (Idrees and Saeed 2021). Penisiline dirençli *S. aureus*, penisilin β -laktam halkasını hidrolize edebilen penisilinaz üretebilir ve bu da penisiline karşı dirence yol açar (Khoshnood *et al.* 2019).

Stafilokok suşlarında makrolidlere, linkozamidlere ve streptogramin B'ye karşı direnç, metisiline karşı dirençle ilişkilidir. Makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLSB) direncinden sorumlu *erm* genlerinin hızlı aktarımı, eritromisin gibi geleneksel makrolidlerin klinik uygulamasını büyük ölçüde sınırlamıştır (Miklasińska-Majdanik 2021). Gram-negatif bakterilerde, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL'ler), gram-negatif bakteriler tarafından geliştirilen, klinik terapötikler üzerinde yük oluşturan ve gecikmiş tedavi ile daha yüksek morbiditeye neden olan direnç mekanizmalarıdır (Shilpakar *et al.* 2021). ESBL'ler, 3. ve 4. nesil sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize edebilen plazmid aracılı beta-laktamaz genleridir (Jalal *et al.* 2023).

Plazmidler, son derece hareketli olan GSBL genlerini barındırır ve kinolonlar ve aminoglikozitler gibi diğer antimikrobiyal gruplara direnç sağlayan genler içerebilir (Ugbo *et al.* 2020). SHV, TEM ve CTX-M gen direnci GSBL'ler arasında en yaygın ailelerdir (Ouchar Mahamat *et al.* 2019). AmpC β -laktamaz genleri klinik olarak önemlidir çünkü genellikle 4. nesil sefalosporinler ve karbapenemler dışındaki çoğu β -laktama direnç kazandırır (Zhou *et al.* 2022). Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, patojenlere veya doku hasarına karşı birinci basamak savunma mekanizması olarak görev yapar; patojenle ilişkili moleküler kalıpların (PAMP'ler) veya hasarla ilişkili moleküler kalıpların (DAMP'ler) üretimi, sırasıyla enfeksiyon, doku hasarı veya nekroz nedeniyle salınan patojenlerin veya endojen ligandların tanınmasını sağlar (Zhang and Liang 2016). Toll benzeri reseptörler (TLR'ler), doğuştan gelen bağışıklık tepkisi sırasında PAMP

tanımda önemli bir role sahip bir örüntü tanıma reseptörleri (PRR'ler) ailesini oluşturur. TLR'ler, antimikrobiyal aktivitenin indüksiyonu ve inflamatuvar sitokinlerin üretimi yoluyla işlevlerini yerine getirirken, aynı zamanda doku onarımı ve rejenerasyonunda da önemli bir rol oynarlar (Vidya *et al.* 2018). PCR, moleküler biyolojide ve üropatojenik bakteri izolatlarının tespitinde hızla en yaygın kullanılan tekniklerden biri haline gelen güçlü bir tekniktir (Mihaylova *et al.* 2012). Tetra-ARMS-PCR, tek nükleotid polimorfizmini (SNP) tanımlamak (Islam *et al.* 2021) ve DNA'daki tek mutasyonun heterozigot mu yoksa homozigot mu olduğunu ayırt etmek için uygulanmıştır (Komijani *et al.* 2022).

Bu çalışma, TLR4 rs7873784, TLR4-rs11536889 fonksiyonel polimorfizmleri ile idrar yolu enfeksiyonlarında çoklu ilaca dirençli bakteri geliştirme duyarlılığı arasındaki ilişkiyi aşağıdaki hedefler doğrultusunda değerlendirmeyi amaçlamaktadır:

- Güney bölgelerindeki Iraklı hastalarda TLR4 gen polimorfizmi ile çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu idrar yolu enfeksiyonları arasındaki ilişkinin belirlenmesi.
- İYE'de bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkili tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) rs11536889, rs7873784'ün genetik risk faktörlerinin araştırılması.
- TLR4 reseptör gen polimorfizmi TLR4 rs7873784 G/C, TLR4-rs11536889 G/C'nin İYE'li hasta ve sağlıklı kontrol tam kan örneklerinde Amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi polimeraz zincir reaksiyonları (ARMS- PCR) ile saptanması.
- İdrar yolu enfeksiyonu olan hastanın idrar örneğinde bulunan en yaygın bakterilerin izolasyonu, karakterizasyonu ve tanımlanması, altın standart test olan seçici ve diferansiyel besiyerinde kültür, konvansiyonel biyokimyasal testler, VITEK-2 kompakt sistemi ve PCR Tekniği ile tanının doğrulanması.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 İdrar Yolu Enfeksiyonları (İYE)

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), hem toplumda hem de hastanelerde insanlarda en yaygın görülen bakteriyel hastalıklardan biridir, İYE'ler her yıl milyonlarca kişiyi etkileyen ciddi bir sorundur, vücutta en yaygın ikinci enfeksiyon şekli idrar yolu enfeksiyonlarıdır (Salvatore *et al.* 2011). İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), solunum yolu enfeksiyonlarından sonra insanlarda en sık görülen enfeksiyonlardır ve aynı zamanda hastanede yatan hastalarda nozokomiyal (hastane kaynaklı) enfeksiyonların ana kaynağıdır (Rawal *et al.* 2017). Asemptomatik veya semptomatik olabilen İYE'lere bakteriyemi, sepsis ve hatta ölüme kadar geniş bir yelpazede çeşitli semptomlar eşlik edebilir (Ranjbar *et al.* 2016). Yetişkin kadınların %50 ile %60'ı hayatlarının bir döneminde İYE ile karşılaşmaktadır ve bu durum İYE'yi kadınlarda en sık görülen bakteriyel hastalıklardan biri haline getirmektedir (Al-Badr and Al-Shaikh 2013).

Kadınlarda, üretranın nispeten kısa olması ve bakterisidal prostatik salgının bulunmaması nedeniyle çeşitli organizmaların mesaneye yükselmesi erkeklere göre daha kolaydır. Enfeksiyonlar, her yıl milyonlarca insanı etkileyen ciddi bir sağlık sorununa neden olmakta ve bebeklerden yaşlılara kadar her yaşı etkileyen en yaygın bulaşıcı hastalıklar arasında bulunmaktadır (Bader *et al.* 2017). İdrar yolu enfeksiyonu (İYE); sistit, piyelonefrit, prostatit, ürosepsis ve kateter ilişkili İYE gibi çok sayıda klinik fenotipi ifade etmektedir (Gupta *et al.* 2017). Hem klinik uygulamada hem de araştırmalarda İYE tanısı çok sayıda klinik belirti ve semptom ile belirlenmektedir. Belirti ve semptomlar; (1) dizüri, sıklık gibi alt idrar yolu semptomları (2) ateş gibi sistemik belirti ve semptomlar (3) bulantı ve halsizlik gibi spesifik olmayan belirti ve semptomlar olarak alt gruplara ayrılabilir. Yaygın olarak kullanılan tanısal testler arasında, lökosit esteraz ve nitrit varlığını belirlemek için, idrar dipstick, piyüri miktarını belirlemek için mikroskopi veya akış sitometrisi yer almaktadır (Bilsen *et al.* 2023).

2.2 İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Sınıflandırılması

2.2.1 Komplike idrar yolu enfeksiyonu

Komplike bir İYE, idrar yollarında yapısal veya nörolojik anormalliklerin olduğu kişileri etkilemektedir. Bu nedenle, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, taş, sepsis, idrar tıkanıklığı, kateterler veya böbrekleri içeren tüm idrar yolu enfeksiyonları komplike enfeksiyon olarak kabul edilir (Cruz *et al.* 2019).

Komplike İYE örnekleri şunları içerir:

- Obstrüksiyon, hidronefroz, böbrek yolu taşı veya kolovezikal fistül gibi anatomik anormallikler nedeniyle ortaya çıkan enfeksiyonlar
- Bağışıklık sistemi baskılanmış bir duruma bağlı olarak ortaya çıkan enfeksiyonlar, (örneğin steroid kullanımı, kemoterapi sonrası, diyabet, yaşlı nüfus, HIV)
- İYE'ye neden olan atipik organizmalar
- Yeterli tedaviye rağmen tekrarlayan enfeksiyonlar (çok ilaca dirençli organizmalar)
- Gebelikte meydana gelen asemptomatik enfeksiyonlar (bakteriüri dahil)
- Nefrostomi tüpleri, üreterik stentler, suprapubik tüpler veya foley kateterlerin yerleştirilmesi veya değiştirilmesi gibi enstrümantasyon işlemlerinden sonra ortaya çıkan enfeksiyonlar
- Böbrek nakli ve omurilik yaralanması hastalarında enfeksiyonlar
- Böbrek fonksiyon bozukluğu, diyaliz veya anürisi olan hastalarda enfeksiyonlar
- Cerrahi prostatektomi veya radyoterapi sonrası enfeksiyonlar

Kateterle ilişkili İYE'ler (CAUTI'ler): İYE açısından tedavi edilmesi en zor hasta gruplarından biri kalıcı kateteri olanlardır. Kateterle ilişkili İYE'ler (CAUTI) hem hastanede hem de uzun süreli sağlık tesislerinde en sık görülen hastane enfeksiyonlarıdır (Flores-Mireles *et al.* 2015). Kısa süreli kateterizasyon, yerleştirildiği her gün CAUTI riskini %3-7 oranında artırmakta ve hastanede yatış sırasında komplikasyon riski %80'e kadar çıkmaktadır. Uzun süreli kateterizasyonda ise komplikasyon riski neredeyse

%100'dür (Flores-Mireles *et al.* 2019). CAUTI'ler artmış morbidite ve mortalite ile ilişkilidir ve sekonder bakteriyeminin en yaygın nedenidir (Flores-Mireles *et al.* 2015). Üriner kateter, normal konakçı bağışıklık savunmasını üretra boyunca geçirerek kasık ve perineyi kolonize eden mikroorganizmaların mesaneye doğrudan erişimini sağlar, ayrıca kalıcı tahriş mesanede kateterin iltihaplanmasına ve normal mesane kasılmasının ve işemenin engellenmesine neden olur, bu da enfeksiyona yatkınlığı artırır (Flores-Mireles *et al.* 2019).

Bu hastalar özellikle çoklu ilaca dirençli (MDR) patojenlerle yüksek kolonizasyon ve semptomatik enfeksiyon oranlarına sahiptir. Kateteri olan hastalar genellikle yaşlıdır. Uzun süreli bir bakım tesisinde ikamet etmektedir ve çoklu antibiyotiklere yaygın olarak maruz kalmaktadır (Zowawi *et al.* 2015). Hidrofilik kateterler, biyofilmlerin oluşumunu en aza indirme özelliğine sahip olmasına rağmen (Hooton *et al.* 2010) bir CAUTI durumunda, kateter yerindeyken tedaviye devam etmek MDR kolonizasyonu riskini artırmaktadır. Bu nedenle, kateterin hızlı bir şekilde değiştirilmesi önemlidir (Lo *et al.* 2014).

Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu (rUTI): Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu (İYE), yılda en az üç İYE veya son altı ayda iki İYE sıklığı ile komplike olmayan veya komplike İYE'lerin tekrarlamaşı olarak tanımlanabilir (Bonkat *et al.* 2018). Tekrarlayan enfeksiyonların iki ana mekanizma ile gerçekleştiği öne sürülmektedir:

Aynı izolatin, vajinadan veya rektumdan kontaminasyon yoluyla yeniden üretilmesi, spesifik antibiyotik direnç özellikleri ve sekans tipi ile ilişkilendirilmiştir (Karami *et al.* 2020). İYE'lerde antibiyotik direncini etkileyen diğer önemli bir faktör de biyofilm oluşumudur (Zhao *et al.* 2020). Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları genellikle farklı bakteriyel organizmalarla yeni enfeksiyonlar oluşturur. Organizma aynı olmaya devam ederse, bu nükseden bir enfeksiyondur ve apse, üriner taş veya prostatit gibi yetersiz tedavi edilmiş bir kaynağı düşündürür. Tekrarlayan enfeksiyonların kaynağı herhangi bir basit sistit ile aynıdır ve tipik olarak rektal bakteriyel flora per üretral bölgeyi ve üretrayı kontamine eder. Bakteriler buradan kolayca mesaneye ulaşabilir. Yapılan araştırmalar

bağırsak, vajina arasında karmaşık bir ilişki olduğunu göstermektedir (Meštrović *et al.* 2020). Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonunun yaygın risk faktörleri şunlardır;

- Tekrarlayan İYE, antibiyotik direnci gelişimi için önemli bir risk faktörüdür (Eremenko *et al.* 2020).
- Üropatojen bağırsak bolluğu böbrek nakli hastalarında İYE için bir risk faktörüdür (Magruder *et al.* 2019). Diğer taraftan, konjenital böbrek ve idrar yolu anomalileri, mesane ve bağırsak disfonksiyonları, ürolitiazis ve mesanenin tam boşalmaması (Buettcher *et al.* 2021), *Diabetes mellitus*, immünosupresyon, halsizlik, kötü hijyen ve ileri yaş yaygın risk faktörleri olarak sıralanabilir (Bonkat *et al.* 2018)

Ürosepsis İYE: Sepsis, enfeksiyona karşı düzensiz konakçı yanıtının neden olduğu fizyolojik, biyolojik ve biyokimyasal anormalliklerle karakterize klinik bir sendromdur. Sepsis ve ilişkili inflamatuvar yanıt, adından da anlaşılacağı gibi çoklu organ disfonksiyonu sendromuna ürosepsise ve hatta ölüme neden olabilir. Ürosepsis, ürogenital sistem kaynaklı sepsistir. Tüm septik hastaların yaklaşık %30'unda enfeksiyon odağı, esas olarak üreter taşları gibi çeşitli seviyelerdeki tıkanıklıklar nedeniyle ürogenital sistemde lokalizedir. Ürosepsis, ürogenital sistemdeki operasyonlardan sonra da ortaya çıkabilir. Ürosepsiste, ürogenital sistemden gelen bakterilerin tamamı ve bakteri hücre duvarının bileşenleri konakçı inflamatuvar olayı tetikler ve hastaların ökaryotik hedef hücreleri üzerinde eksojen pirojenler olarak hareket eder. Hiperaktiviteden immünosupresyona kadar, piyelonefrit ürosepsisin en sık nedeni böbrek fonksiyonudur (Shimoni *et al.* 2020).

2.2.2 Komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonu

Komplike olmayan bir idrar yolu enfeksiyonu (İYE), mesanenin ve ilişkili yapıların bakteriyel bir enfeksiyonudur. Bu hastalarda yapısal anormallik ve diyabet, bağışıklık sistemi baskılanmış durum veya gebelik gibi komorbiditeler yoktur. Komplike olmayan İYE, sistit veya alt İYE olarak da bilinir. Bakteriüri (idrarda bakteri bulunmasına) tek başına semptomları olmayan bir İYE oluşturmaz. Genellikle görülen tipik semptomlar, idrar sıklığı, suprapubik rahatsızlık ve dizüridir. Birçok komplike olmayan İYE vakası

tedavi olmaksızın kendiliğinden düzelir, ancak birçok hasta semptomların giderilmesi için tedavi olmaktadır. Tedavi, bakterinin böbreklere yayılmasını, nefronlardaki hassas yapıların tahrip olmasını ve hipertansiyona yol açabilecek üst yol hastalığı olan piyelonefrite dönüşmesini önlemektedir (Tang *et al.* 2019).

2.3 İdrar yolu Enfeksiyonlarının Enfeksiyon Bölgesine Göre Sınıflandırılması

2.3.1 Alt idrar yolu (Mesane enfeksiyonu)

İYE'nin karakteristik semptomları; İdrar yaparken ağrı veya yanma (dizüri), gece idrar yapmak için kalkma ihtiyacı (Noktüri), idrar tutamama (üriner inkontinans), sık ve az miktarda idrar çıkarma, kötü kokulu idrar, bulanık idrar (piyüri), kanlı idrar (hematüri), alt karın veya pelvik ağrısı, ateş ve yorgunluk olarak sıralanmaktadır (Saleem and Hamawy 2020).

2.3.2 Üst idrar yolu (Piyelonefrit)

Piyelonefrit belirtileri; Genellikle sırtta veya yanlarda derin ve yüksek olan yan ağrısı, üst karın ağrısı, yüksek ateş, vücut titremesi ve terleme, Bulantı veya kusma, Bebek ve daha büyük çocuklarda karın ağrısı, halsizlik, dizüri, sıklık, gece idrar kaçırma, iştahsızlık, düşük kilo, büyümede gecikme, zayıf büyüme olarak sıralanabilir (Qazaryan and Karim 2019).

2.4 İYE'lerin Klinik Belirtileri

2.4.1 Sistit

Sistit, alt idrar yolunun veya daha spesifik olarak idrar kesesinin enfeksiyonu anlamına gelir ve genel olarak komplike veya komplike olmayan olarak kategorize edilebilir. Komplike olmayan sistit, sağlıklı olan erkeklerde veya hamile olmayan kadınlarda alt idrar yolu enfeksiyonunu (İYE) ifade eder. Komplike sistit ise enfeksiyon olasılığını ve

tehlikesini veya antibiyotik tedavisinin başarısız olma şansını artıran risk faktörleriyle ilişkilidir (Duane *et al.* 2019).

Sistit genellikle periüretral mukozanın fekal veya vajinal floradan bakteriler tarafından kolonize edilmesi ve bu patojenlerin idrar kesesine ulaşması nedeniyle gelişir. Üropatojen, konak savunmalarından kaçmalarına ve idrar yolundaki dokuları istila etmelerine izin veren mikrobiyal virülans faktörlerine sahip olabilir, Erkeklerde İYE, daha uzun anatomik üretra, daha kuru periüretral ortam ve prostatik sıvının sağladığı antibakteriyel savunma nedeniyle daha az görülür. Geleneksel olarak, erkeklerdeki tüm İYE'ler komplike olarak kabul edilir. Bununla birlikte, ürolojik anormallikler, mesane çıkışı obstrüksiyonu, ürolitiazis veya yakın zamanda idrar yolu enstrümantasyonu gibi komplike İYE'ler için herhangi bir risk faktörüne sahip olmadıkları sürece, özellikle cinsel olarak aktif olan ve sünnetsiz olan 15 ile 50 yaş arasındaki erkeklerde zaman zaman komplike olmayan İYE'ler ortaya çıkabilir (Tyagi *et al.* 2019).

2.4.2 Üretrit

Üretrit, üretranın iltihaplanmasıdır ve bir alt idrar yolu enfeksiyonudur. Üretra hem erkeklerde hem de kadınlarda idrarın ve erkeklerde meninin vücuttan çıktığı fibromusküler bir tüptür. Üretritin cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlarla (CYBE) güçlü bir ilişkisi vardır. Üretrit, gonokokal veya gonokokal olmayan enfeksiyonlar olarak karakterize edilir. *Neisseria gonorrhea* ve *Chlamydia trachomatis* CYBE'lerin en yaygın etken organizmalarıdır. Üretritin en yaygın semptomu üretral akıntıdır (Ito *et al.* 2016). Üretrit, üretral mukopürülan veya pürülan akıntı gibi semptomlarla tespit edilebilir. Ayrıca, üretral sekresyonların Gram boyamasında yağa daldırma alanı başına >2 WBC görülmesi, Gram boyama üretriti test etmek için tercih edilen hızlı tanı testidir. Bu yöntem, hem üretriti hem de gonokok enfeksiyonunun varlığını (veya yokluğunu) belgelemek için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Bunlara ek olarak, birinci işeme idrarında pozitif lökosit esterez testi veya yüksek güçlü alan başına 10'dan fazla WBC gösteren birinci işeme idrar sedimentinin mikroskopik incelemesi sonucunda da belirlenebilir (Workowski 2015).

2.4.3 Prostatit

Prostatit, prostat bezinin çeşitli farklı şekillerde ortaya çıkan bir iltihabıdır ve bazıları enfeksiyonu içerir. Prostatın enfeksiyon yolları arasında yükselen üretral enfeksiyon, enfekte idrarın posterior üretraya boşalan prostatik kanallara reflüsü, doğrudan uzantı, lenfatik veya hematojen yayılma yoluyla rektal bakterilerin istilası yer almaktadır (Khan *et al.* 2017). Bakteriyel prostatit, genç ve yaşlı erkeklerde bimodal dağılım gösteren prostat bezinin bakteriyel bir enfeksiyonudur. Doğası gereği akut bakteriyel prostatit veya kronik bakteriyel prostatit olarak sınıflandırılabilir. Uygun şekilde tedavi edilmezse önemli morbiditeye neden olabilir (Kang *et al.* 2018).

Bakteriyel prostatit en yaygın olarak *Enterobacteriaceae* ailesinin üyelerinden kaynaklanır, ancak diğer ailelerden organizmalar da sorumlu olabilir. *Escherichia coli* idrar kültürlerinden en yaygın izolattır ve vakaların çoğunda (yaklaşık %50 ile %90) etken ajandır. Diğer yaygın izolatlar arasında *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* ve *Pseudomonas* türleri bulunur. *Enterococcus* türleri ve *Staphylococcus* türleri gibi Gram-pozitif organizmalar ve *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* gibi cinsel yolla bulaşan organizmalar da bazen transrektal prostat biyopsisi gibi prosedürlerden kaynaklanan prostat manipülasyonu ile ilişkilendirilir. Transüretral prostat biyopsisi, sistoskopi ve kateterizasyonun; *Pseudomonas*, karışık organizmalar, *Staphylococcus* enfeksiyonları ve tedavi başarısızlığı ile arttığı görülmektedir (Carroll *et al.* 2017).

2.4.4 Akut ve kronik piyelonefrit

Akut piyelonefrit, böbrek ve komşu yapıların iltihaplanma sürecidir. Tipik alt sistem semptomları olan dizüri, sıklık ile yan ağrısı, karın ağrısı, bulantı, titreme, baş ağrısı, halsizlik, kusma, ateş veya titreme ile başvuran hastalarda piyelonefrit olduğundan şüphelenilmelidir (Johnson and Russo 2018). Yetişkinlerde akut İYE'ler; akut sistit ve akut piyelonefrit ataklarını içerir. Bu İYE'ler çoğunlukla kadınlarda görülür. Kronik piyelonefrit genellikle idrar yolu tıkanıklığı, diyabet ve bağışıklık sisteminin baskılanmasıyla ilişkilidir (Bodro *et al.* 2018). Piyelonefrit riskinin artması, tedavi

edilmeyen İYE'nin bir sonucu olabilir ve geçici böbrek yetmezliği, akut solunum bozuklukları ve hematolojik anormallikler gibi ciddi sonuçlara yol açabilir (Quaia *et al.* 2018).

2.4.5 Renal apseler

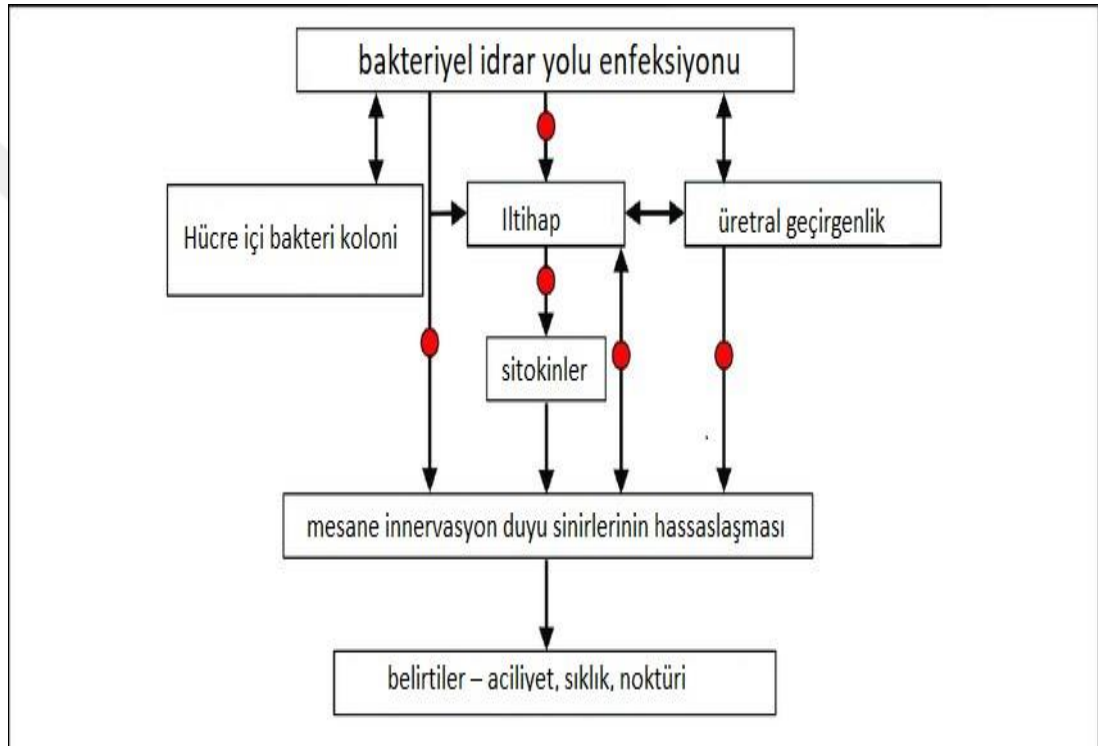
İdrar yolu enfeksiyonu (İYE), böbrek naklinden sonraki üç ay içinde en sık karşılaşılan enfeksiyonlardan biridir ve insidansı (%10 ile %98) arasındadır. Asemptomatik bakteriüriden allogreft apsesi ve septik şoka kadar değişebilir. Gram-negatif organizmalar vakaların %75'inden fazlasında izole edilir ve en sık *E. coli* görülür (Assimakopoulos *et al.* 2018).

2.5 İYE Patogenezi

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), bağırsakta yerleşik üropatojenlerin üretrayı ve ardından spesifik adhezinlerin etkisiyle mesaneyi kolonize etmesiyle başlar. Konağın inflamatuvar yanıtı tüm bakterileri ortadan kaldıramazsa çoğalır. Hayatta kalmalarını destekleyen toksinler ve enzimler üreten böbreklerin kolonizasyonu, patojen böbrek epitel bariyerini geçerse bakteriyemiye dönüşebilir. Komplike İYE'lerde, üropatojenlerin enfeksiyonunu kateterizasyon ile ortaya çıkan mesane tehlikesi belirir. En yaygın durum, kateterizasyonun indüklediği güçlü bağışıklık tepkisinin bir sonucu olarak kateter üzerinde fibrinojen birikmesidir. Üropatojen, fibrinojen bağlayıcı proteinlerin ekspresyonu yoluyla katetere bağlanır ve bakteriler de biyofilm korumasının bir sonucu olarak çoğalır. Enfeksiyon tedavi edilmezse piyelonefrit ve bakteriyemiye ilerleyebilir. İYE'ler dünya çapında insanlarda en yaygın bakteriyel ve en yaygın hastane kaynaklı enfeksiyondur (McLellan and Hunstad 2016).

Çoğu zaman, enfeksiyon özellikle erken evrelerde çok şiddetli görünmez, ancak komplike edici faktörlerin varlığında önemli ölçüde kötüleşebilir (Zagaglia *et al.* 2022). İYE'nin ilerlemesinde rol oynayan komplikasyon faktörleri biyofilmler, obstrüksiyona bağlı üriner staz ve kateterlerdir. İYE'ler, etiyoloji ve koşulların ciddiyeti açısından farklılık

gösteren heterojen bir klinik bozukluk grubunu oluşturmaktadır. İYE riski, çok çeşitli içsel ve edinsel faktörlerden etkilenmektedir. Üriner retansiyon, vezikoüreteral reflü, sık cinsel ilişki, prostat bezi büyümesi, vulvovajinal atrofi ve aile öyküsü gibi nedenlerle spermisit kullanımı kadınlarda İYE riskini de artırabilir (Craven *et al.* 2019). Herhangi bir spesifik İYE semptomu olmaksızın $\geq 10^5$ ünite/mL koloni oluşturan bir idrar kültürü, genellikle kendiliğinden düzeldiği ve tedavi gerektirmediği için asemptomatik bakteriüri olarak tanımlanır (Şekil 2.1) (Luu and Albarillo 2022).



Şekil 2.1 İdrar yolu enfeksiyonunun patogenezi (Mansfield *et al.* 2022)

2.6 Risk Faktörleri

İYE komplikasyonları riski kadınlarda daha yaygındır çünkü hastalık kadınlarda belirti vermeden bakteriüri ile ilişkili olabilir (Al-Badr and Al-Shaikh 2013). İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) için risk faktörleri davranışsal, anatomik veya genetik olabilir. Hamilelik gibi geçici durumlar İYE'ye yatkınlık yaratabilir veya omurilik yaralanmasına bağlı nörojenik mesane disfonksiyonu gibi kalıcı durumlarda enfeksiyondan kaynaklanan ciddi komplikasyon riskini artırabilir. Hastanın ihtiyaçları ve tıbbi müdahaleler nedeniyle,

İYE riski zaman içinde değişmektedir. İyileştirilmiş uygulamalar (örneğin daha iyi hijyen veya kateterlerden kaçınma) değiştirilebilir risk faktörlerini kontrol edebilirken, değiştirilemeyen risk faktörleri söz konusu olduğunda profilaktik tedavilerin kullanılması tavsiye edilebilir (Ahmed *et al.* 2017).

2.7 İYE Prevalansı ve Epidemiyolojisi

En yaygın enfeksiyon hastalıkları arasında yer alan İYE'ler, gelişmekte olan ülkelerde klinisyenler tarafından sıkça karşılaşılan bir hastalıktır ve yıllık küresel insidansının en az 250 milyon vaka olduğu tahmin edilmektedir (John *et al.* 2016). İYE'nin epidemiyolojisi ve prevalans oranları yaş, cinsiyet, ırk ve hastanın sünnet durumuna göre gruplandırılmaktadır (Zorc *et al.* 2005). İYE tüm ırklarda görülür, ancak epidemiyolojik çalışmalar farklı ırklarda İYE prevalansının ve komplikasyonlarının değiştiğini göstermektedir. Beyaz ırk İYE'ye diğer ırklardan daha açıktır. Cinsiyet İYE'de önemli bir faktördür. Cinsiyet yaşamın ilk yılında erkeklerde İYE'nin baskın olduğunu ancak yaşamın ilk yılından sonra kızlarda erkeklerden daha fazla İYE göstermektedir. İYE insidansı yaşamın ilk yılında en yüksek seviyededir ve ergenlik döneminde tekrar zirve yapar. İYE insidansı genç kadınlarda önemli ölçüde artarken genç erkeklerde sabit kalır. İYE oranları 6 yaşından sonra düşer ve yaşamın ilk yılında cinsel aktivitenin artması nedeniyle ergenlik döneminde tekrar önemli ölçüde yükselir (Sawalha 2009).

2.8 İYE'nin Etiyolojik Ajanı

Üriner sistemde kolonize olan herhangi bir patojen (mantarlar, parazitler ve virüsler gibi) İYE'ye neden olabilse de enterik kökenli bakteriler en yaygın suçlulardır. İdrar yolu enfeksiyonlarına birçok bakteri cinsi neden olur. İdrar yolu enfeksiyonuna neden olan bakteriler sıklıkla üretra yoluyla mesaneye girer. Kan veya lenfatik sistemler potansiyel olarak enfekte olabilir. Üretra herhangi bir potansiyel enfeksiyon kaynağıdır ve enfeksiyonun ilk olarak kendini gösterdiği yerdir. Bakterilerin genellikle bağırsaktan üretraya bulaştığına ve kadınların anatomileri nedeniyle daha fazla risk altında olduğuna inanılmaktadır (Vasudeva and Madersbacher 2014).

Bu enfeksiyondan sorumlu birçok idrar yolu bakteriyel patojeni vardır. Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC), İYE'lerin en yaygın etkenidir ve toplum kaynaklı İYE'lerin %80'inden fazlasından sorumludur (Terlizzi *et al.* 2017). Diğer patojenler arasında bulunan; *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, Grup B *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida* spp. özellikle hastane kaynaklı ve kateter ilişkili enfeksiyon ajanları olarak bilinmektedir (Flores-Mireles *et al.* 2015). Gram-pozitif üropatojenlerin neden olduğu komplike olmayan İYE'lerde yalnızca Stafilokoklar, özellikle de *S. saprophyticus* önemli bir rol oynamakta ve vakaların yaklaşık %5 ile 15'ine katkıda bulunmaktadır. Komplike İYE'lerde Stafilokoklar ve Enterokoklar ana gram-pozitif üropatojenlerdir. Bu organizmalar hastanelerde, bakım evlerinde ve kronik bakım tesislerinde yaygın hale gelmiştir. *S. aureus*'un neden olduğu İYE'ler tipik olarak ikincil kan kaynaklı enfeksiyonlar nedeniyle ortaya çıkmaktadır (Lane and Takhar 2011).

2.8.1 İYE'lere neden olan gram pozitif bakteriler

- ***Staphylococcaceae* taksonomisi**

Gram pozitif bakterilerin taksonomik sınıflandırması Çizelge 2.1'de verilmiştir (Jawetz *et al.* 2013).

Çizelge 2.1 Gram pozitif bakterilerin taksonomik sınıflandırması (Jawetz *et al.* 2013)

Alem	<i>Bacteria</i>
Filum	<i>Bacillota</i>
Sınıf	<i>Bacilli</i>
Ordo	<i>Bacillales</i>
Familya	<i>Staphylococcaceae</i>
Cins	<i>Staphylococcus</i>
Tür	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>

A) *Staphylococcus saprophyticus*

Staphylococcus saprophyticus, özellikle cinsel olarak aktif genç kadınlarda komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) yaygın bir nedeni olan Gram-pozitif, koagülaz-negatif, hemolitik olmayan bir koktur. Daha az yaygın olarak, akut piyelonefrit, üretrit, epididimit ve prostatit gibi komplikasyonlardan sorumludur (Argemi *et al.* 2019).

B) *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, genç kadınlarda İYE'lerden sorumlu ikinci en yaygın patojendir (Foxman *et al.* 2000). *Staphylococcus*, *Staphylococcaceae* familyasına bağlı fakültatif anaerobik bir bakteridir (Stark 2013). *S. aureus* katalaz, koagülaz pozitif, spor oluşturmayan, 0,5 ile 1µm çapında kümeler halinde dizilmiş, motil olmayan Gram-pozitif bir bakteridir (Bitrus *et al.* 2017). Oksidaz negatiftir ve yüksek tuz konsantrasyonunu tolere edebilir ve ısıl işleme dirençlidir (Oliveira *et al.* 2018). *S. aureus* hem hastane hem de toplum ortamında bulunur ve cilt enfeksiyonları, endokardit, idrar yolu enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, sepsis ve gıda zehirlenmesi gibi çok çeşitli enfeksiyonlara neden olur (Dayan *et al.* 2016).

S. aureus, İYE'nin %0,5-6'sını oluşturmaya rağmen idrar yollarını istila edebilen enfeksiyonda rol oynayan ajanlardan biridir. Ancak tedavi edilmezse enfeksiyon hayatı tehdit eden ciddi bir duruma yol açabilir (Tayebi *et al.* 2014). *S. aureus*, hücre duvarı ile ilişkili proteinler ve polimerler, hücre dışı enzimler ve toksinler dahil olmak üzere birçok önemli virülans faktörüne sahiptir (Gao *et al.* 2018). Koagülaz, *S. aureus* enfeksiyonları sırasında biyofilm oluşumunda önemli bir rol oynar. Koagülaz konak protrombinine bağlanır ve aktif stafilotrombin kompleksleri oluşturur. Daha sonra, çözünür monomerik fibrinojeni kendiliğinden polimerize olan çözünmez fibrine dönüştürür ve bir pıhtılaşma kaskadını aktive eder (Crosby *et al.* 2016). Spesifik olarak, kümelenme faktörü B'nin Metisiline dirençli *S. aureus* kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonu (MRSA CAUTI) patogeneğinde aktif bir role sahip olduğu, kümelenme faktörü A'nın ise sistemik enfeksiyon için önemli olduğu gösterilmiştir (Walker *et al.* 2017). Metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) ve metisiline dirençli suşlarla ilişkili Sağlık Hizmeti Kaynaklı Metisiline dirençli *S. aureus* (HA-MRSA), MRSA bağlantılı toplum kaynaklı suşlar (CA-MRSA)

bulunmaktadır. MRSA enfeksiyonlarının çoğu, 1961 ve 2008 yılları arasında hastanelerde birkaç klonal komplekse ait suşlardan kaynaklanmıştır (Pitt 2018).

Biyofilm oluşumu, üç membran proteini (IcaA, IcaD ve IcaC) ve bir hücre dışı protein (IcaB) kodlayan hücreler arası yapışma molekülü operonunun (icaADBC) ekspresyonuna bağlı olan polisakkarit hücreler arası adezin üretimini içerir. Ayrıca, stafilokoklarda biyofilm oluşum sürecine biyofilmle ilişkili protein; yüzey proteini G fibronektin, bağlayıcı proteinler ve stafilokokal protein A dahil olmak üzere çeşitli yüzey proteinleri dahil olmuştur (Foulston *et al.* 2014).

2.8.2 İYE'lere neden olan gram negatif bakteriler

- ***Enterobacteriaceae* taksonomi sınıflandırması**

Enterobacteriaceae'nin taksonomik sınıflandırması Çizelge 2.2'de verilmiştir (Jawetz *et al.* 2013).

Çizelge 2.2 *Enterobacteriaceae*'nin taksonomik sınıflandırması

Alem	<i>Eubacteria</i>
Filum	<i>Proteobacteria</i>
Sınıf	<i>Gamma proteobacteria</i>
Ordo	<i>Enterobacteriales</i>
Famlya	<i>Enterobacteriaceae</i>
Cins	<i>Klebsiella spp-Escherichia spp-Proteus spp</i>

A) *Escherichia coli*

Escherichia coli, Gram negatif, çomak şeklinde, laktoz fermentörü, bir dairesel kromozomdan oluşan, insan kolonunda yaygın fakültatif anaerob olan, dağılımı çeşitlilik gösteren ve çoğu zararsız olan *Escherichia* cinsine ait zararlı türlerdir. İdrar yolu, gastrointestinal sistem, bakteriyemi ve sepsis enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Lee *et al.* 2016). O-hücre antijeni, H- flagella antijeni ve K- Kapsüler antijen olmak üzere üç

antijene sahiptir (Reisner *et al.* 2014). O ve K antijenleri, konak savunmasından kaçınma yoluyla *E. coli*'nin hayatta kalmasına katkıda bulunan iyi tanımlanmış virülans faktörleridir (Miajlovic and Smith 2014). Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC), *Escherichia coli*'nin bağırsak florası olarak kommensal statüsünden sapan, idrar yolunda büyüyen, kalıcı olan ve idrar yolunda enfekte olmalarına ve hastalıklara neden olmalarına izin veren çeşitli virülans faktörleri ve stratejileri sergileyen suşlarıdır. Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC), İYE'lerin birincil etiyolojik ajanıdır (Al-Jamei *et al.* 2019). Ekstra intestinal patojenik *Escherichia coli* (ExPEC) oldukça esnek genomlara ve yatay gen transferi yoluyla genleri yakalama ve yayma eğilimine sahiptir (Bajaj *et al.* 2016). Yatay gen transferi plazmid konjugasyonu, faj transdüksiyonu ve transpozonlar, ekleme dizileri ve integronlar gibi küçük mobil genetik elementler yoluyla gerçekleşebilir ve genetik bilginin türler arası ve tür içi hareketine izin verir (Partridge *et al.* 2018). Çoklu ilaca dirençli gram-negatif basil vakalarının sayısının artması ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin etkinliğinin azalması küresel bir endişe kaynağıdır (Ismail *et al.* 2018).

β -Laktam antibiyotikler, hastane ve toplum kaynaklı UPEC enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan ana ilaç sınıfıdır (Dasgupta *et al.* 2018). β -laktamlara karşı bakteriyel direncin ortaya çıkması ve yayılması, tedavi başarısızlığına ve tekrarlayan enfeksiyonlara yol açması klinik bir endişe kaynağıdır (Gajamer and ark. 2020). *E. coli*'de β -laktam antibiyotiklere karşı direncin ana mekanizması, genişlemiş spektrumlu β -laktamazların (ESBL'ler) ve plazmid aracılı β -laktamazların (pAmpC'ler) üretimidir (Ghonaim and Moaety 2018).

B) *Klebsiella pneumonia*

Klebsiella Gram-negatif, hareketli olmayan ve çubuk şeklinde bir bakteridir. Bakteri bir kapsüle sahiptir ve birçok antibiyotiğin etkisine karşı dirençlidir (Al-Nakeeb *et al.* 2018). *K. pneumoniae*, patojenitesine katkıda bulunan çeşitli virülans genleri barındırabilir. Tüm genom dizilimi kullanılarak yapılan yakın tarihli bir çalışmada, yersiniabactin, aerobactin ve mukoid fenotip düzenleyicileri gibi invaziv *K. pneumonia* arasında önemli ölçüde daha sık görülen birkaç virülans faktörü tespit edilmiştir (Holt *et al.* 2015). Yapıştırıcılar arasında bulunan Pilli, protein yapımı ve bakterinin konağa bağlanmasını sağlar. MrkD

geni hücre dışı matrise bağlanmaya aracılık eder. Ayrıca tip 3 fimbria yapışmayı kodlar (Compain *et al.* 2014). *K. pneumoniae* tarafından eksprese edilen tip 1 ve tip 3 fimbria, kateterize mesane modelinde üriner kateterler üzerinde biyofilm oluşumunu artırmaktadır (Clarke 2015).

C) *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis, kateterin lümenal yüzeylerinde ve çevresinde biyofilm oluşturan Gram-negatif, çubuk şeklinde, üreaz-pozitif bir bakteridir (Armbruster *et al.* 2018). *P. mirabilis* tarafından ifade edilen üreazın birincil işlevi bakteri için bir nitrojen kaynağı sağlamaktır. ureC geni idrar pH'nın yükselmesinden ve bunun sonucunda taş oluşumundan sorumludur (Mohammed *et al.* 2014). *Proteus* enfeksiyonlarının yüzde doksanı *P. mirabilis* nedeniyle ortaya çıkar ve bunlar toplum kaynaklı enfeksiyonlar olarak kabul edilir (Wang *et al.* 2020). *P. mirabilis* üreazı, idrarda büyüme sırasında yapısal olarak ifade edilir. Üreaz, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri* ve *Morganella morganii* gibi diğer türlere kıyasla üreyi birkaç kat daha hızlı bir şekilde amonyak ve karbonata aktif olarak hidrolize eder. Oldukça aktif olan *P. mirabilis* üreazı, bağlı bakteri hücreleri tarafından üretilen polisakkaritler içinde hapsolmuş hızlı kristal oluşumu üretir ve kateterler üzerinde kristal biyofilmler oluştururlar (Flores-Mireles *et al.* 2015). *Proteus mirabilis*, flagellar peritrichous bir bakteridir (Fattorini *et al.* 2020). Bu mikroorganizmanın hareketliliği sürü halindedir, bu mikroorganizma sürü halindeyken virülans ifadesi artar (Kotian *et al.* 2020).

2.9 Çoklu İlaç Direnci (MDR)

Çoklu ilaç direnci (MDR) veya çoklu direnç, bir mikroorganizma türünün üç veya daha fazla antimikrobiyal kategoride en az bir antimikrobiyal ilaca karşı gösterdiği antimikrobiyal dirençtir (Magiorakos *et al.* 2012). Birçok insan patojeninde direnç gelişimi daha önce görülmemiş bir ölçekte olmuştur. Direnç çoklu ilaç direncine dönüştüğü için sonuç olarak dünya çapında morbidite ve ölümlerde artış olmuştur (WHO 2014). Özellikle, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türlerine ait bakteri suşları bu

salgın için önem taşımaktadır (Rice 2008). Hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterileri kapsayan bu patojenler genellikle kromozom veya plazmidler üzerinde kodlanan karmaşık evrimsel kökenli genetik direnç adasında ikamet eden MDR belirleyici genler taşımaktadır (Toleman and Walsh 2011).

2.9.1 Çoklu ilaç direnci (MDR) gram-pozitif bakteriler

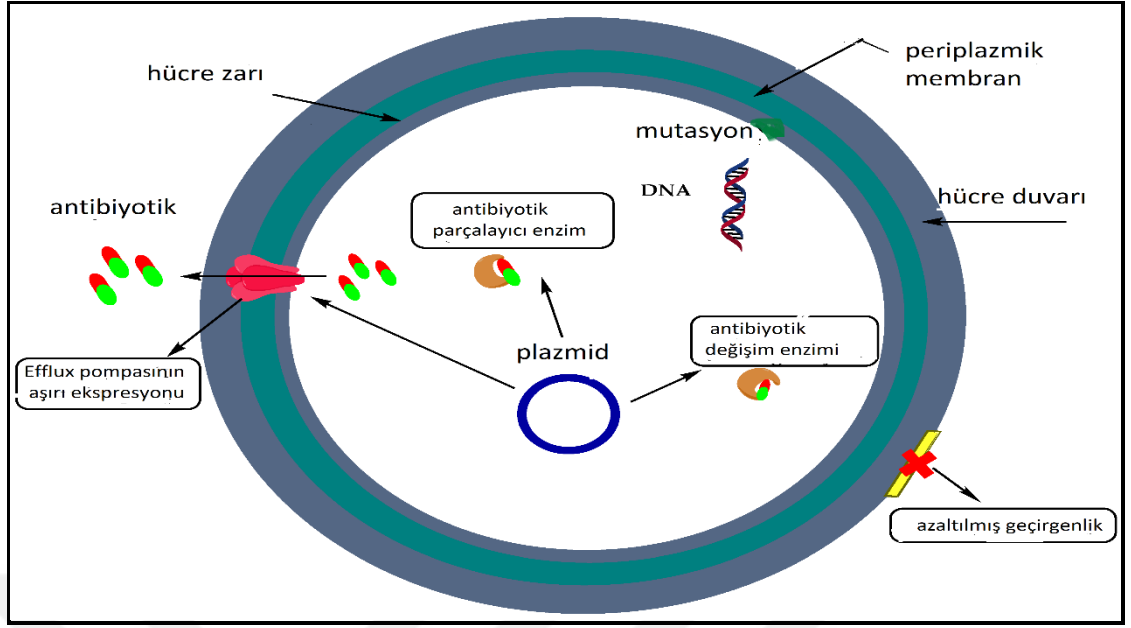
Gram-pozitif bakteriler arasındaki yaygın MDR, önemli fırsatçı patojen *S. aureus* ile örneklendirilebilir. Bu bakteri, insan nüfusunun %30'unda taşınan normal bir komensaldir. Bakteri, penisilinin kullanılmaya başlanmasından önce yumuşak doku ve deri enfeksiyonlarından hayatı tehdit eden endokardite kadar çok çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. *S. aureus*, hastaların %80'inin ölümüne neden olan bakteriyemiye neden olur (Peacock and Paterson 2015).

- Penisilinin keşfi *S. aureus*'a karşı yaygın kullanımına yol açmıştır. Ancak 1940'ların ortalarında plazmid kaynaklı penisilinazlar yoluyla penisilin direnci yaygınlaşmıştır (Padovan *et al.* 2012). Alternatif tedavi olarak İngiltere'de 1959 yılında bozunmaya dirençli yarı sentetik penisilinin (metisilin) piyasaya sürülmesiyle metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) tanımlanmıştır. MRSA genotipi, 11 tipi tanımlanmış olan Stafilokokal kaset kromozom mec (SCCmec) elementinin taşınmasından kaynaklanmaktadır (Lowy 2003). SCCmec elemanlarının hepsinin ortak özellikleri, *S. aureus* kromozomu üzerindeki orfX geninin aynı bölgesine yerleşmeleridir. *S. aureus*, mecI ve mecR düzenleyici genleri tarafından kontrol edilen bir *mecA* geni Penisilin bağlayıcı protein (PBP2a) ve SCCmec elementinin eksizyon ve entegrasyonuna aracılık eden kaset kromozom rekombinaz (ccr) içerir. Eksizyon ve entegrasyon, ccr kodlu DNA rekombinaz tarafından tanınan spesifik ters çevrilmiş ve doğrudan tekrarlar içinde bulunan ekleme bölgesi dizisinin tanınması yoluyla gerçekleşir (Padovan *et al.* 2012). MRSA'nın; Sağlık hizmetleri ile ilişkili MRSA (HA-MRSA), Toplumla ilişkili MRSA (CA-MRSA) ve son olarak canlı hayvanlarla ilişkili MRSA (LA-MRSA) olarak üç ana grubu bulunmaktadır (Scherer *et al.* 2013)

Bu üç grup, SCCmec kaseti taşıdıkları için neredeyse tüm β -laktam antibiyotiklere dirençlidir, ancak enfeksiyona neden olma yetenekleri bakımından farklılık gösterirler. HA-MRSA ve LA-MRSA'nın her ikisinin de hastanede yatan hastalarda enfeksiyona neden olduğu gösterilmiştir (Brand *et al.* 2010). LA-MRSA'nın insanlarda daha az virülan olduğu düşünülse de bu durum, USA300 gibi yakın zamanda ortaya çıkan ve sağlıklı yetişkinlerde enfeksiyona neden olabilen CA-MRSA suşlarıyla tezat oluşturmaktadır (Münch *et al.* 2014). MRSA soyları arasındaki farklılıklar temel olarak farklı soylardan izolatlar arasındaki virülans farklılıklarıyla ilişkilidir. MSSA ve MRSA'nın virülansı toksin üretimi, hücrenin yapışkan özellikleri ve bağışıklıktan kaçınma gibi çok faktörlü mekanizmalara bağlıdır. MRSA suşları sorundur çünkü SCCmec genotiplerinin yanı sıra genellikle *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan diğer önemli antibiyotiklere karşı direnç determinantları taşırlar. *S. aureus* enfeksiyonları, Avrupa'da izole edilen MRSA'ların %70'inde enzimatik bozulma veya antibiyotik direncine sebep olmuştur (Dosler and Gerceker 2011).

Bu nedenlerle MRSA tedavisi genellikle glikopeptid antibiyotikler (vankomisin) ve linezolid gibi oksazolidinonlarla tedaviyi içermektedir. Vankomisin direnci ya aralıklı vankomisine dirençli *S. aureus* (VISA) ya da vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) olarak bildirilmiştir. Ayrıca vanA gen kümesinin yatay gen transferi yoluyla vankomisin direnci bilinmektedir. Bu da bir başka önemli Gram-pozitif patojen olan vankomisine dirençli *Enterococcus faecalis*'ten (VRE) kaynaklanmaktadır (Rossi *et al.* 2014).

Dirençli izolatların sürekli gelişmesi ve yayılması nedeniyle, önemli Gram-pozitif patojenlerle mücadele için yeni stratejiler geliştirmek önem taşımaktadır. Birleşik Krallık'ta yapılan çalışmalar, antibiyotik tüketiminin kısıtlanmasının MRSA gibi bakteriyel enfeksiyonlarla enfeksiyon oranlarını azalttığı göstermiştir (Lawes *et al.* 2015). Gram-pozitif enfeksiyonlar için yeni antibiyotiklerin geliştirilmesine yönelik ihtiyaç devam etmektedir. Ciddi Gram-pozitif enfeksiyonlar için en yeni antibiyotik telavansindir, ancak daha önceki pek çok ilaç gibi bu da daha önce geliştirilen vankomisin antibiyotiğinin bir türevidir (Şekil 2.2) (Karlowsky *et al.* 2015).



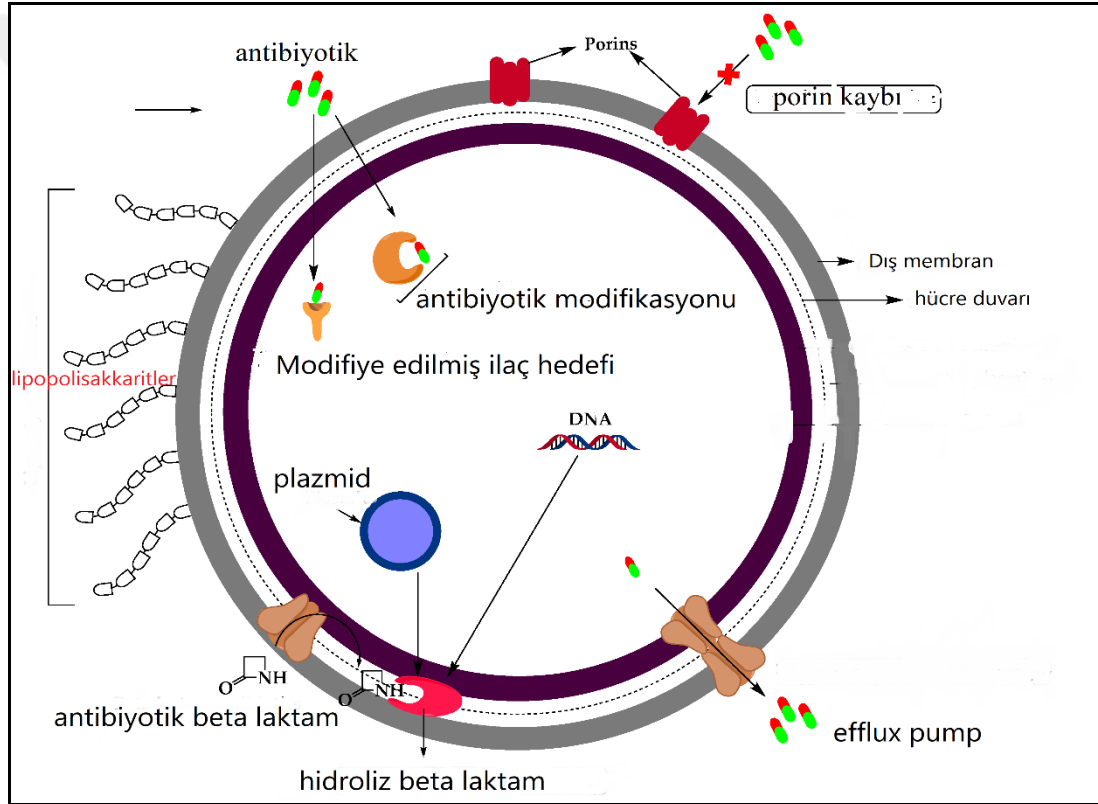
Şekil 2.2 Gram-pozitif bakterilerin direnç mekanizmaları (Jubeh *et al.* 2020)

2.9.2 Çoklu ilaç dirençli (MDR) gram-negatif bakteriler

Hastane enfeksiyonlarının büyük çoğunluğu MDR Gram-negatif enfeksiyonlardan kaynaklandığından, bugün toplumumuzda açık ara en önemli ve maliyetli patojenlerdir (Livermore 2012). Oldukça sorunlu suşlar, penisilinler, sefalosporinler ve son çare olan karbapenemler gibi çeşitli β -Laktam antibiyotik nesillerini hidrolize etme kapasitesine sahip β -Laktamaz enzimlerini kodlayan geniş spektrumlu β -Laktamaz (ESBL) ve karbapenemaz genlerini taşımaktadır (Nordmann *et al.* 2012). Önemli bakteri suşları, CTX-M-15 (ESBL) geni taşıyan *E. coli* dizi tipi ST131 (Nicolas-Chanoine *et al.* 2014) ve *K. pneumonia* karbapenemaz ST258 suşu (Gootz 2010) gibi enterobakterileri kapsamaktadır.

Genişlemiş spektrumlu B-laktamaz (ESBL), 1980'lerin ortalarında bu ailenin üyelerine geniş spektrumlu direnç kazandırmıştır. Rotondo and Wright (2017)'ye göre ESBL üreten bakteriler bakım hastanelerinde daha yaygın hale gelmektedir. Genel popülasyon prevalansı ülkelere göre değişmektedir. Oksimino yan zincirine sahip GSBL'ler GSBL olarak bilinir, hidrolize seftriakson, antibiyotiklere ve beta-laktamlardaki oksiminoya karşı çoklu direnç sağlayan oksiminomonobaktam ve aztreonam GSBL'leri gibidir

(Ramadan *et al.* 2019). Bu B-laktamazların canlı bölgesini çevreleyen amino asit içeriğini uyarlayan TEM-1, TEM-2 veya SHV-1 genlerinden üretilir. Normal şartlar altında bu enzimler daha geniş bir beta-laktam antibiyotik setini parçalayabilir. TEM veya spesifik olmayan artan sayıda ESBL tanımlanmıştır. ESBL'ler tipik olarak düzenli olarak ESBL üretebilen bir plazmid ile kodlanır ve diğer ilaç türlerine (örn. aminoglikozidler) karşı ilaç direnci için kodlanan genleri içerirler. ESBL üreten organizmaların tedavisinin önemi çok büyüktür. Bazı genişlemiş spektrumlu sefalosporinler, ESBL üreten mikropların hassas görünmesini sağlayabilir. Ancak yüksek başarısızlık oranına sahip antibiyotiklerle tedavi edilmiştir (Spadafino *et al.* 2014) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Gram-negatif bakterilerin yapısı ve direnç mekanizmaları (Breijyeh *et al.* 2020)

2.10 İYE'ye Neden Olan Bakterileri Kodlayan Genler

2.10.1 *mecA* geni

Staphylococcus aureus, antibakteriyel ilacın 1961 yılında klinik olarak kullanılmaya başlamasından hemen sonra metisiline karşı direnç geliştirmiş ve hem hastanelerde hem de toplumda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) küresel bir salgın haline gelmiştir (Crespo-Piazuelo and Lawlor 2021). Peptidoglikan oluşumunda bir enzim işlevi gören penisilin bağlayıcı proteinler (PBP'ler) bakteri hücre duvarında bulunur (Akusobi *et al.* 2022). MRSA'nın aksine, PBP'ler genellikle beta-laktam antibiyotiklere karşı düşük bir afiniteye sahiptir ve bu da antibiyotik direncine yol açar (Bilyk *et al.* 2022). *mecA*, bakteri hücre duvarının oluşmasına yardımcı olan bir transpeptidaz olan PBP2A (penisilin bağlayıcı protein 2A) proteinini kodlar. PBP2A, metisilin ve penisilin gibi beta-laktam antibiyotiklere DD-transpeptidazdan daha düşük bir afiniteye sahiptir. Böylece penisilin benzeri antibiyotiklerin halkalı yapısına bağlanmaz. Bu da beta-laktamların varlığında transpeptidaz aktivitesini mümkün kılarak hücre duvarı sentezini inhibe etmelerini önler (Idrees and Saeed 2021).

2.10.2 *ermA* ve *ermB* genleri

1952'de keşfedilen ilk makrolid olan eritromisinin, *S. aureus* da dahil olmak üzere çok çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Schönfeld and Kirst 2002). Eritromisinin aşırı kullanımı, dirençten sorumlu mekanizmaların ortaya çıkmasına neden olmuştur. *S. aureus*'un eritromisine karşı direncinde çeşitli mekanizmalar rol oynamıştır. En yaygın direnç mekanizması, eritromisinin ribozomlara bağlanma yeteneğini azaltan ribozomal bağlanma bölgesinin modifikasyonudur. *erm* genleri tarafından kodlanan ribozomal metilaz sentezi bu modifikasyona aracılık eder (Aktas *et al.* 2007). Örneğin, makrolid antibiyotikler düzenleyici lider peptid *ermCL* veya *ermBL* üzerinde ribozom duraklamasını teşvik eder ve ardından *ermC* veya *ermB*'nin ekspresyonunu indükler (Arenz *et al.* 2014). *ermC* ve *ermB* genleri, 23S rRNA'daki tek bir adenini dimetilleyen bir ribozomal metilaz kodlar, makrolidlerin ribozoma olan

afinitesini önemli ölçüde azaltır, yüksek düzeyde makrolid direncine ve hücre sağkalımına neden olur (Leclercq and Courvalin 2002).

Bakteriyel patojenlerde ilaç direncinin hızla ortaya çıkması, makrolid antibiyotikler de dahil olmak üzere birçok antibiyotiği bu tehdide karşı etkisiz hale getirmektedir. Bugüne kadar, 16 üyeli halkalı makrolid antibiyotikler klinikte nadiren kullanılmıştır. Bu nedenle klinikte 16 üyeli halkalı makrolidlere dirençli bakterilerin ortaya çıkışı söz konusu değildir. Bu tür antibiyotikler, geleneksel anlayışa göre klinikte tedavi için potansiyel bir alternatif yaklaşım olarak kullanılabilir. 16 üyeli halkalı makrolidler direnç genlerinin ekspresyonunu indükleyemez (Breiner-Goldstein *et al.* 2021). *ermB* geninin yukarı akışında bulunan düzenleyici bölgeye bağlı olarak, düzenleyici bölge, kendi ribozom bağlanma bölgesi (RBS1), translasyonel olmayan bir döngü sapı yapısı, birkaç *ermB* (*ermB'*) kodlama dizisi ve kendi ribozom bağlanma bölgesi ile *ermBL* olarak da adlandırılan kısa bir lider peptit içerir. Ek olarak, *ermBL2* adlı başka bir lider peptidin düzenleyici bölgede bulunduğunu ve gen ifadesinin eritromisin (Ery) aracılı indüksiyonu için kritik olduğunu da belirlenmiştir (Wang *et al.* 2021).

2.10.3 TEM β -laktamaz

GSBL'ler en çok sayıda ve en yaygın enzim kategorisidir. TEM-1 ve TEM-2 bunların evrimsel öncüleridir. TEM laktamaz ilk olarak 1960 yılında Yunanistan'da Temoniera adlı bir kadından izole edilen gram-negatif bakterilerde sadece plazmid aracılı bir enzim olarak keşfedilmiştir ve ilk nesil sefalosporinler buna dirençlidir. Penisilin ve sefalosporin direncinin her ikisi de TEM tarafından sağlanır. İkinci ve dördüncü nesil sefalosporinlere, -laktamaz inhibitörlerine ve türevlerine karşı dirençli olduğu gösterilmiştir (Sharma *et al.* 2010).

2.10.4 SHV β -laktamaz

Değişken sülfhidril reaktifi terimi, TEM beta-laktamazlarının keşfedilmesinden kısa bir süre sonra keşfedilen değişken sülfhidril reaktifi teriminden gelmektedir (Drawz and

Bonomo 2010). SHV geni, *K. pneumoniae* izolatlarında ortak bir plazmid aracı beta-laktamaz olarak bulunur. Buna göre, SHV-1 laktamaz, *Enterobacteriaceae*'de SHV-1'e önemli düzeyde direnç kazandıran plazmid kodlu bir beta-laktamazdır ancak SHV-laktamazlar en sık görülenidir (Pfaller and Segreti 2006). İlk olarak *K. pneumoniae*'nin klinik izolatlarında ve sülfhidril hidrolizi olan sefalosporin ilaçları için genel bir tercih olarak keşfedilmiştir (Li *et al.* 2009).

2.10.5 CTX-M β -laktamazlar

CTX-M-laktamazlar 1980'lerin sonunda bulunmuştur (Peerayeh *et al.* 2014). CTX-M ailesi, diğer GSBL tiplerinden farklı olarak, çeşitli ve birbirine benzemeyen bir dizi enzimden oluşur. CTX-M varyasyonları başlangıçta amino asit dizisi hizalamasına dayanan beş kümede (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25) gizlenmiştir. CTX-M -laktamazlar, *Escherichia coli* ile yakın akraba olan ve filogenetik çalışmaya göre dünya çapında bulunan bakterilerden -laktamaz genlerinin kromozomal mobilizasyonunu tamamlayarak evrimleşmiştir (Abbassi *et al.* 2008).

bla genlerinin hareketli genetik yapılara dahil edildiği ve daha sonra aktarılabilir plazmidler üzerinde konjugasyon yoluyla klinik bakterilere aktarıldığı tespit edilmiştir. *bla*CTX-M genleri sıklıkla gen aktarımında *K. pneumoniae* izolatlarının tek nedeni değildir. CTX-M enzimi üreten suşların klonal genişlemesi de katkıda bulunan diğer bir faktördür. Ayrıca, İYE'ye neden olan MDR *K. pneumoniae* izolatlarında, CTX-M-laktamazın diğer virülans faktörleriyle kombinasyonu enfeksiyonu artırabilir ve tedavi seçeneklerini kısıtlayabilir (Goldar *et al.* 2015).

2.10.6 AmpC β -laktamaz

Gram-negatif bakteriler doğada yaygındır ve insanlarda yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olur. Gram-negatif bakterilerde C sınıfı sefalosporinazlar (AmpC'ler), genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (ESBL) ve karbapenemaz gibi beta-laktamaz (β -laktamaz) enzimlerinin ekspresyonu, tedavi başarısızlığı, hastanede kalış

süresinin uzaması, artan sağlık hizmeti maliyeti ve ölümle sonuçlanan artan antibiyotik direnci ile ilişkilendirilmiştir (De Oliveira *et al.* 2020).

Plazmid aracılı AmpC β -laktamazlar (blaFOX-M, blaDHA-M, blaCMY-M ve blaACC-M dahil), sefalotin, sefazolin, sefoksitine karşı dirence aracılık eden klinik olarak ilgili sefalosporinazlardır. Çoğu penisilin ve β -laktamaz inhibitörü-beta-laktam kombinasyonlarında AmpC'nin aşırı üretimi, sefotaksim, seftazidim ve seftriakson gibi genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere direnç kazandırmaktadır (Abdalhamid *et al.* 2017). AmpC üretimi *Enterobacterales*'de sıklıkla rapor edilmiştir. Endişe verici olan AmpC β -laktamazların aşırı üretimi ve efluks pompalarının yukarı regülasyonudur. Bu da sinerjik olarak gram negatif bakterilerde karbapenemlere ek direnç kazandırabilir (Codjoe and Donkor 2017).

2.10.7 Antimikrobiyal ajanların etki mekanizmaları

β -laktamlar hücre duvarının gelişimini engelleyen antibiyotiklerdir ve amoksil, ampisilin ve karbapenem gibi antibiyotikleri içerir. Protein sentezini inhibe eden antibiyotikler arasında makrolidler tetrasiklin, klindamisin ve klinik laboratuvar tetrasiklini bulunur. Bu antibiyotikler sırasıyla 50S ve 30S ribozomal birimlerine bağlanarak çalışır (Tenover 2006). Florokinolonlar ve rifampisin gibi antibiyotikler DNA sentezini ve RNA'yı inhibe ederek nükleik asit sentezine müdahale eder. Antibiyotikler sülfonamid adı verilen ve folik aside benzeyen bir metabolik süreci bloke eder. Antibiyotikler, polimiksinler ve daptomisin gibi bakteriyel membranların yapısını değiştirir (Tenover 2006).

Beta-laktamazlar, penisilinler, sefalosporinler, sefamisinler ve karbapenemler gibi beta-laktam antibiyotik ailesine karşı bakteriyel direncin başlıca nedeni olan enzimlerdir. Bu enzimler, dört üyeli beta-laktam halkasının amid bağının hidrolizini katalize eder ve antibiyotiği orijinal hücresel hedefine karşı inaktif hale getirir. Hücre duvarı transpeptidazları primer yapıları temelinde beta-laktamazlar A, B, C ve D enzimleri olmak üzere dört sınıfa ayrılır. A, C ve D sınıfı enzimlerin aktif bölgesinde serin bulunurken, B sınıfı enzimler çinko-metalloenzimlerdir (Eftekhar *et al.* 2012). Antimikrobiyal direnç yaygın olarak geniş spektrumlu beta-laktamazların (GSBL'ler)

üretilmesiyle ortaya çıkabilir (Naqid *et al.* 2020). ESBL'ler, esas olarak plazmidler içinde bulunan genler tarafından kodlanan ve β -laktam halkasını hedef alan enzimlerdir. Bazı ESBL kodlayan genler, bakteri türleri arasında DNA transferini kolaylaştıran transpozonlar veya ekleme dizileri içinde bulunur. Plazmidler üzerinde bulunan ESBL'leri kodlayan genler, bakteri suşları arasında transfer olabilir ve transferi kolaylaştırır (Rozwandowicz *et al.* 2018).

K. pneumoniae'nin de dahil olduğu Gram-negatif bakterilerde, bla genleri gibi β -laktam antibiyotiklerin aşırı kullanımı nedeniyle geniş aralıklı enzimler ortaya çıkmıştır. Bla geni, nispeten daha az etkilenen karbapenemler ve sefamisinler dışında, β -laktamlar olarak adlandırılan farklı antibiyotiklere dirençli olabilen β -laktamazları kodlar (Sawa *et al.* 2020). GSBL enzimleri, klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktam gibi β -laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilen birkaç antibiyotikten yalnızca biri olan penisilin, sefalosporin ve monobaktam türlerini içeren çeşitli β -laktam antibiyotikleri hidrolize ve deaktive eder. GSBL'ler çoğunlukla blaSHV, blaTEM ve blaCTX-M geni tarafından kodlanan β -laktamazlardaki mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar (Gundran *et al.* 2019). ESBL'ler, 3. ve 4. nesil sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize edebilen plazmid aracılı beta-laktamaz genleridir (Jalal *et al.* 2023).

2.11 Bağışıklık ve İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Moleküler Genetiği

2.11.1 Bağışıklık

Bağışıklık sistemi; cildi, solunum yollarını, bağırsak sistemini mikroplar (bakteri, mantar ve parazitler gibi organizmalar), virüsler, kanser hücreleri ve toksinler gibi yabancı antijenlerden korumak için işlev gören hücreler, kimyasallar topluluğunu ve bizi enfeksiyondan koruyan yapısal ve kimyasal bariyerleri ifade eder. Bağışıklık sistemi basitçe iki savunma hattına sahip olarak görülebilir: doğuştan gelen bağışıklık ve adaptif bağışıklık. Doğuştan gelen bağışıklık, davetsiz bir patojene karşı ilk savunma hattını temsil eder ve konakçı tarafından bir antijenle karşılaştıktan hemen sonra veya saatler içinde kullanılan antijenden bağımsız (spesifik olmayan) bir savunma mekanizmasıdır (Murphy and Weaver 2016).

Doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin immünolojik hafızası yoktur ve bu nedenle, vücudun gelecekte aynı patojene maruz kalması durumunda aynı patojeni tanıyamaz veya hafızaya alamaz. Diğer taraftan, adaptif bağışıklık antijene bağımlıdır ve antijene özgüdür. Adaptif bağışıklığın ayırt edici özelliği, konağın antijene maruz kaldığında daha hızlı ve etkili bir bağışıklık yanıtı vermesini sağlayan hafıza kapasitesidir. Doğal ve adaptif bağışıklık, konak savunmasının birbirini dışlayan mekanizmaları değildir. Bunun aksine tamamlayıcıdır ve her iki sistemdeki kusurlar konak savunmasızlığına veya uygunsuz yanıtlara neden olur (Murphy and Weaver 2016).

İYE düşük bağışıklık fonksiyonu olan hastaları etkilediğinde, antibiyotikler çok daha uzun süre ve daha sık kullanılabilir. Bu durumda, mantar enfeksiyonu, ilaç direnci ve *dysbacteriosis* birleşir ve idrar yolu enfeksiyonunun klinik tedavisi için birçok zorluk getirir. Bunun sonucunda tekrarlayan İYE piyelonefrite neden olur. Sistemik bağışıklık ve mukozal bağışıklığın artırılması, idrar yolu enfeksiyonunu, özellikle de tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonunu önlemek ve kontrol etmek için önemlidir (Gupta *et al.* 2017). Doğal ve adaptif bağışıklığı içeren bağışıklık sistemi mekanizmaları, Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC) ve *Candida albicans* (*C. albicans*) gibi patojenik mikroorganizmaların insan idrar yoluna girmesiyle aktive olur (Jahandeh *et al.* 2015). Doğal Bağışıklık Alt İYE'de konak savunması; doğal bağışıklık yanıtları ve ürotelyum bariyer işlevi olarak iki ana mekanizmadan oluşur (Abraham and Miao 2015).

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi; Toll benzeri reseptörler (TLR) gibi örüntü tanıma reseptörleri, Plazma proteinleri, kemokinler ve sitokinler, Epitel hücreleri, kemik iliği kaynaklı fagositler, dendritik hücreler ve doğal öldürücü hücreler gibi hücresel bileşenler, Reaktif oksijen ve reaktif nitrojen ara ürünleri gibi toksik moleküller ve Antimikrobiyal peptitlerden (AMP'ler) oluşur.

Ek olarak, ürogenital sistem ve bağırsak kanalında normal olarak bulunan yerel mikrobiyota, yerel ortamın pH'ını değiştirerek ve İYE'yi kontrol eder. Bunun için, yar kendi antimikrobiyal ürünlerini üreterek ve ayrıca Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC) gibi daha virülan bakteriyel suşların rekabetçi inhibitörleri olarak hareket eder. Ek olarak, başka bir doğuştan gelen bağışıklık kaynağı olarak hizmet eder (Spencer *et al.* 2014).

Patojenlere karşı konakçı bağışıklık tepkisinin İYE patogenezi üzerinde büyük bir etkisi vardır.

Doğuştan gelen bağışıklık tepkileri patojenlere karşı konak savunmasının ilk hattında önemli roller oynasa da aşırı miktarda mevcut olduklarında veya düzensiz olduklarında da zarar verirler. Örneğin akut koşullarda, üroepitelyal hücreler ve inflamatuvar hücreler, UPEC uyarımına yanıt olarak, bir dizi pro-inflamatuvar mediatör üretir (IL-6, TNF ve IL 8). Bunlar aşırı miktarda mevcutsa epitelyal inflamasyon hasarına neden olarak bakterilerin alttaki dokuya girmesine izin verir (Godaly *et al.* 2015). Son çalışmalar, Gram-negatif patojenlerin enfeksiyonunu temizlemeye yönelik yüzeysel mesane epitel hücrelerinde toll benzeri reseptör 4 (TLR4) tarafından tetiklenen çok yönlü bir doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin varlığını ve belki de adaptif bağışıklığın daha az önemli veya farklı bir rolünün olduğunu ortaya koymuştur. Daha önce steril olarak kabul edilmesine rağmen, mesane mikrobiyomunun üretranın yanı sıra koruyucu bir role sahip olduğu düşünülmektedir (Thomas-White *et al.* 2018).

İdrar yollarında patojenik bakteri kolonizasyonunun önündeki engeller arasında asidik pH ve idrar nakli yer alır. Ürotelyum, idrar yollarında enfeksiyona karşı başlıca kurucu bariyerdir. Patojen yapışmasını geciktiren mukus glikozamino glikanlardan, enfeksiyona dirençli çok çekirdekli şemsiye hücrelerinin birkaç katmanından oluşur. Üroplakinler adı verilen glikoprotein plakaları, Apoptotik enfekte epitel hücreleri pul pul dökülerek mesane lümenine salınır ve bakteri yükünü azaltır. İç bazal stromal hücreler bu apoptotik hücrelerin yerine yeni ürotelyum üretir. Üromodulin gibi çözünür faktörler UPEC'nin epitel hücrelerine yapışmasını engelleyebilir (Abraham and Miao 2015). Ürotelyum tarafından üretilen üromodulin, UPEC nötrofil jelatinaz ilişkili lipokaline (NGAL) yapışmayı engeller, demir reseptörlerini inhibe eder ve bakteriyel çoğalma kapasitesini bloke eder. Katelisidin ve diğer antimikrobiyal peptitler membran lizisine neden olur. Pentraxin 3 üropatojenleri opsonize eder ve nötrofiller ve makrofajlar tarafından fagositozlarını kolaylaştırır. Epitel hücreleri TLR'ler aracılığıyla inflamazomu aktive ederek pro-inflamatuvar sitokinler üretir. Adaptif immün yanıt da üropatojenleri nötralize eden antijene özgü IgA üreten B lenfositleri ile katılır (Abraham and Miao 2015).

Bariyer işlevlerine ek olarak, epitel hücreleri patojenlere yanıt vermek için TLR'leri ifade eder. Ürotelyum tarafından eksprese edilen TLR4/5'in aktivasyonu, fagositoz için nötrofilleri kan akışından mesane lümenine çeken pro-inflamatuar sitokinlerin ve çeşitli kemokinlerin salınmasına yol açar. Hem makrofajlar hem de doğal öldürücü hücreler bu süreci desteklemek için sitokinler salgılamak, mast hücresi kaynaklı faktörler (örn, Histamin) hücre göçüne yardımcı olmak için vazodilatasyona neden olur (Abraham and Miao 2015). Tüm bağışıklık yanıtlarında olduğu gibi, idrar yollarındaki bağışıklık sisteminin uyarıcıya bağlı kısımları, yanıtın gücü ile aşırı iltihaplanma arasında bir denge kurmalıdır. Aksi bir durum, bakterilerin kalıcı olmasına, daha sonra enfeksiyona neden olmasına veya ürotelyumda inflammatuar hasara yol açmasına neden olabilir. Örneğin, TLR/desen tanıma reseptörlerinin (PRR) aktivasyonu, savunmaya yönelik hücreye özgü inflammatuar yanıtları indükler. Bu durum aynı zamanda böbrek hastalığı ile de ilişkilidir (Kurts *et al.* 2013). Dengeyi korumak amacıyla, enflamasyonu azaltmak için nötrofiller idrardan atılır. Düzenleyici olarak değişmez NK T hücreleri (NKT hücreleri) ve Treg hücreleri, hücreler üzerinde anti-inflamatuar etkiler gösterir. Enfeksiyonun son aşamasında mast hücreleri, dendritik hücreleri olgunlaşmamış T hücresi inhibitör durumunda tutarak ve interlökin (IL)-10 üretimi yoluyla enflamasyonu azaltarak inhibitör bir rol üstlenir. Ayrıca nötrofiller anti-inflamatuar meta-proteaz enzimleri üretme kapasitesine sahiptir (Kurts *et al.* 2013).

2.11.2 Toll benzeri reseptörler (TLR)

Hayvan hücreleri, koruyucu doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini başlatmak için üreme bandı tarafından kodlanan örüntü tanıma reseptörlerine (PRR'ler) güvenir. PRR'ler, enfekte veya hasarlı dokular tarafından üretilen tehlike ile ilişkili moleküler kalıpların (DAMP'ler) tanınması ile patojenlerden gelen patojen ile ilişkili moleküler kalıplar (PAMP'ler) aracılığıyla istilacı mikrobiyal patojenleri tanır (Hato and Dagher 2015). PRR'ler iyi karakterize edilmiş; Toll benzeri reseptörler (TLR'ler), retinoik asitle indüklenebilir gen-I (RIG)-I benzeri reseptörler (RLR'ler), nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptörler (NLR'ler), C tipi lektin reseptörleri (CLR'ler), opsonik reseptörler, AIM2 benzeri reseptörler (ALR'ler), çöpçü reseptörleri

(SR'ler) ve interferon genlerinin uyarıcısı (STING) olarak 8 gruba ayrılır (Fu and Harrison 2021).

PRR, doğuştan gelen bağışıklıkta önemli bir faktördür ve ayrıca dendritik hücrelerin olgunlaşması ve inflamatuvar sitokinlerin salınması yoluyla adaptif bağışıklığın başlatılmasında rol oynar (Kawai and Akira 2011). TLR, çok çeşitli patojenleri tanıyan ilk tanımlanmış PRR'dir (Akira *et al.* 2006). Bu reseptörler, makrofajlar, nötrofiller, dendritik hücreler (DC'ler), doğal öldürücü (NK) hücreler, mast hücreleri, eozinofiller ve bazofiller dahil olmak üzere çeşitli doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinde her yerde ifade edilir. Bunların tümü istilacı patojenlere karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinin oluşturulmasında etkilidir (Delneste *et al.* 2007). Yapısal olarak TLR'ler, ligand bağlanmasından sorumlu lösin bakımından zengin bir hücre dışı alana ve hücre içi sinyalleşmeyi indükleyen sitozolik bir Toll-IL-1 reseptör (TIR) alanına sahip transmembran proteinleridir (Akira *et al.* 2006).

Aktivasyon üzerine TLR'ler, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini 88 (MyD88), Toll/interlökin-1 reseptör alanı içeren adaptör protein (TIRAP), TIRAP-indükleyici IFN- β (TRIF) gibi adaptör proteinleri alır. TRIF ile ilişkili adaptör molekülü (TRAM), NF- κ B kinaz inhibitörü, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinazlar 1-4 ve Tank bağlayıcı kinaz (TBK) gibi protein kinazların yanı sıra, hepsi bağışıklık hücrelerinin sitoplazmasında bulunur. Ligand kaynaklı sinyal iletim kaskadlarını yaymak için aşağı akış proteinlerinin müteakip aktivasyonu sitokin üretimine, çoğalmaya ve hayatta kalmaya yol açar. Bazı sinyaller daha fazla adaptif bağışıklığa neden olur. TLR aktivasyonu, konakçı için enfeksiyonlara ve doku hasarına karşı bir savunma mekanizması olarak hizmet eder. Ardından çeşitli inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına ve bağışıklık hücrelerinin aktivasyonuna yol açan bir sinyal kaskadı başlatır (Wang *et al.* 2016).

2.11.3 TLR4 sinyal yolu

TLR4, üç alandan oluşan bir transmembran proteindir: ekstraselüler alan, transmembran alan ve sitoplazmik alan. Hücre dışı alan, her biri 20-29 kalıntıdan oluşan ve ligand etkileşimi için spesifik bölgeler sağlayan lösin bakımından zengin tekrar (LRR) motifleri

içerir (Kim *et al.* 2007). Gram-negatif bakterilerden elde edilen lipopolisakkarit (LPS), TLR4 için önemli bir temsili ligand olarak hizmet eder (Beutler *et al.* 2001). LPS, TLR4 ile doğrudan etkileşime giremediğinden, adaptör protein miyeloid farklılaşma faktörü-2 (MD-2) aracılığıyla TLR4'e bağlanır. Daha sonra, LPS/TLR4/MD-2 kompleksi bir dimer oluşturarak LPS'nin ötesinde hücre içi sinyali başlatır. TLR4 bakteri, virüs ve mantar kaynaklı çeşitli PAMP'lar tarafından aktive edilir. Hücrelerden türetilen DAMP'lar hücre dışı matris moleküllerini içerebilir (Modhiran *et al.* 2015).

Yüksek hareketlilik grubu kutusu 1 (HMGB1) ve hücre HSP'ler gibi DNA bağlayıcı proteinler de dahil olmak üzere hücre içi faktörleri içerir (Wu *et al.* 2016). Bazı DAMP'lar için TLR4'e kesin bağlanma mekanizmaları tanımlanmamış olsa da TLR4 sinyali yoluyla bir bağışıklık tepkisini tetikledikleri açıklığa kavuşturulmuştur. TLR4'ün hücre içi sinyali, MyD88 bağımlı ve bağımsız sinyalizasyonu olarak iki ayrı yol üzerinden iletilir (Güven-Maiorov *et al.* 2015). TLR4'ün hücre içi TIR alanı çeşitli adaptör proteinlerin bağlanmasını kolaylaştırır (O'Neill and Bowie 2007).

TIR alanının dimerizasyonu, MyD88 ve TIRAP (MyD88-adaptör benzeri (MAL) olarak da bilinir) adaptör proteinlerinin işe alınmasına yol açar ve fosforilasyonları yoluyla IRAK'lar aracılığıyla sinyali teşvik eder. Aktive IRAK, adaptör protein TNF-reseptör ilişkili faktör 6 (TRAF6) ve TAK1-bağlayıcı proteinler 2 ve 3 (TAB2 ve TAB3) tarafından kolaylaştırılan TAK1'e bağlanarak kinaz aktivitesini artırır. TAK1 daha sonra JNK, ERK1/2, p38 ve I κ B kinaz kompleksi (IKK) dahil olmak üzere MAPK'ları aktive ederek NF- κ B ve aktivatör protein-1 (AP-1) gibi çok önemli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna neden olur. Böylece transkripsiyon faktörleri enflamatuvar sitokinlerin üretimini teşvik eder (Valkov *et al.* 2011).

2.12 Laboratuvar İncelemeleri

2.12.1 İdrar numunesi kültürü

İYE'lerin teşhisi için altın standart idrar kültürü ve antimikrobiyal duyarlılık testidir (AST) (Sathiananthamoorthy *et al.* 2019), (Bonkat *et al.* 2019). Toplanan idrar örnekleri işlenmiş ve kalibre edilmiş bir halka (0,001 ml) kullanılarak, kanlı agar ve MacConkey agar plakalarına inoküle edilmiştir. 37°C'de 24-48 saat boyunca bir gece inkübasyondan sonra koloniler, önemli büyümeyi kontrol etmek için sayılmıştır. >105 CFU/mL idrarda bakteri üremesinin koloni sayımları anlamlı olarak kabul edilmiştir (Tadesse *et al.* 2018).

İYE tanısı için standart yöntem zaman alıcı ve lojistik olarak zordur (Bonkat *et al.* 2017). İdrar kültürü, bir akut sistit atağı için tanının temel dayanağı olmaya devam etmektedir. İdrar tahlili, tanısız doğrulukta çok az artış sağlamaktadır (Hilt *et al.* 2014). İdrar kültürleri, ciddi bir enfeksiyon veya yüksek antibiyotik direnci riski (çok ilaca dirençli izolat; yakın zamanda hastaneye yatış) durumunda yapılmalıdır. İdrar kültürleri, tekrarlayan enfeksiyonları (farklı organizmalarla tekrarlayan enfeksiyonlar) ayırt etmek için de gereklidir (Anger *et al.* 2019). İYE semptomlarından şikâyet eden hastaların %33'ü ve idrar tahlilinde piyüri olanların %41'i, İYE'de yaygın mikroorganizmaları ekarte edebilecek negatif bir idrar kültürüne sahip olacaktır (Watson *et al.* 2018). Ayrıca kültürler, cinsel yolla bulaşan hastalıklar (Shapiro *et al.* 2005), menopozun genitoüriner sendromu (Portman and Panel 2014) gibi diğer durumların neden olabileceği üriner veya pelvik semptomların ayırıcı tanısında yardımcı olmaktadır.

2.12.2 Biyokimyasal inceleme

Tek bir organizmanın ≥ 105 CFU/mL konsantrasyonda kültüre edilmesi durumunda bir numune İYE için pozitif kabul edilir. Bakteriye tanımlama biyokimyasal testler kullanılarak yapılır. Biyokimyasal testler; İndol, sitrat, oksidaz, H₂S üretimi, lizin dekarboksilaz, laktoz fermantasyonu, üre hidrolizi, gaz üretimi, katalaz, koagülaz, mannitol fermantasyonu ve novobiysin duyarlılık testi (Bonadio *et al.* 2001) olarak

sıralanabilir. Test şeridi analizinin bileşenlerinden lökosit esteraz ve nitrit, rutin klinik uygulamalarda İYE teşhisi için yaygın olarak kullanılmaktadır. İdrar LE pozitifliği piyüriyi, idrar nitrit pozitifliği ise nitrat indirgeyen bakterilerin varlığını gösterir (Demilie *et al.* 2014). VITEK 2 sisteminin (bioMe'rieux, Fransa) mikroorganizmaların tanımlanması için güvenilir bir tam otomatik cihaz olduğu gösterilmiştir (Aubertine *et al.* 2006). Otomatik yöntemler, bakteriyel tanımlama yöntemlerinin en hızlısı ve en doğrusudur. VITEK 2 sistemi, organizma teşhisi için kullanılan bir biyokimyasal profil sağlayan 30 kuyuda çeşitli biyokimyasal test ortamlarının mikrolitre miktarlarından oluşan plastik bir reaktif kartından oluşur (Maina and Kagotho 2014).

2.12.3 Moleküler teşhis

İYE'ler için PCR tabanlı tanı testlerinin cazibesi, yüksek özgüllük ve duyarlılığının yanı sıra, daha önce standart idrarla adlandırılan enfeksiyonlar için standart bakteri kültürlerine kıyasla sonuçların elde edilebildiği hızda yatmaktadır (Scerbo *et al.* 2016). Lökosit içeren idrar örnekleri rutin kültür duyarlılığı ve PCR testine tabi tutulmuş, kültür yöntemiyle tespit edilen bakteriler ve moleküler yöntemle izole edilen bakterilerin dirençli suşlarından analiz edilmiştir. Araştırmacılar TLR'lerin tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ile idrar yolu enfeksiyonları arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Ancak bu çalışmaların sonuçları tutarsızdır. Daha önce yapılan bir meta-analizde TLR4 ile MDR bakteri kaynaklı idrar yolu enfeksiyonları arasındaki ilişki tartışılmış olsa da (Ziakas *et al.* 2013), TLR4 geninde birkaç basit nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlara karşı artan duyarlılıkla güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Papadimitraki *et al.* 2007). Bununla birlikte, 16SrRNA gen dizisi karşılaştırması, farklı türleri ayırt etmek, bilinmeyen bakterileri tanımlamak ve izolatlar arasındaki genetik ilişkiyi karşılaştırmak ve yakından ilişkili organizmaları klonal kompleksler halinde gruplandırmak için altın standart bir genetik teknik haline gelmiştir (Janda and Abbott 2007). Önceki çalışmalar PCR'ın hem üstün hassasiyete hem de özgüllüğe sahip olduğunu bildirmiş ve sepsiste patojenlerin hızlı bir şekilde tanımlanması (Florio *et al.* 2018) ve genital enfeksiyonların ve cinsel yolla bulaşan hastalıkların teşhisi için PCR'ı önermiştir (Sahi *et al.* 2017).

Çok az sayıda çalışma, İYE ve akut sistit tanısı için multipleks PCR ile idrar kültürünü karşılaştırmıştır (Lehmann *et al.* 2010). Tetra-primer amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi-polimeraz zinciri (ARMS-PCR), durumdan sorumlu spesifik mutasyonları teşhis etmek ve kategorize etmek için kullanılabilir. Bu bilgi genetik danışmanlık, aile planlaması ve erken müdahale için vazgeçilmezdir. ARMS-PCR, adli genetikte, özellikle DNA profili oluşturma ve babalık testi içeren durumlarda insan kimliğinin belirlenmesi için uygulama alanı bulur. Bireylerin belirli genetik belirteçlerle ayırt edilmesinde çok önemli bir rol oynar. Sonuçların güvenilirliğini ve doğruluğunu sağlar. Araştırma ve epidemiyoloji alanında, ARMS-PCR popülasyonlar içindeki genetik varyasyonları keşfetmek için bir araç olarak hizmet eder. Bu veriler alel veya mutasyon prevalansını ve bunların hastalıklarla bağlantılarını anlamamıza katkıda bulunur. Böylece halk sağlığı stratejilerini bilgilendirir ve araştırma yönlerini yönlendirir. Özellikle genetik bileşeni olan hastalıklarda, ARMS-PCR ile genotipleme, bu tür durumların erken tespitinde etkili olabilir (Alyethodi *et al.* 2021).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Ekipman ve cihazlar

Bu çalışmada kullanılan ekipman ve cihazlar Çizelge 3.1'de listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan ekipman ve cihazlar

No	Ekipman ve Cihazlar	Şirket	Menşei
1	PCR thermocycler T100	BioRad	ABD
2	Otoklav	Euronda	İtalya
3	Barkod tarayıcı	Adaptus	Çin
4	Benzen brülörü	Alab Tech	Kore
5	Konik şişeler 500 mL, 1000 mL	Sans Ambala cantt	Hindistan
6	Hücre bozucu Cin girdabı	Scientific Industries	ABD
7	Tek kullanımlık petri kapları	AFCO	Ürdün
8	Dijital kamera	Samsung	ÇİN
9	Denis Check plus	Biomeriux	Fransa
10	Exispin vorteks santrifüj	Bioneer	Kore
11	Jel elektroforezi	Bioneer	Hindistan
12	Yüksek hızlı santrifüj	Hettich	İtalya
13	Yüksek hızlı soğuk santrifüj	Hettich	Almanya
14	İnkübatör	Memmert	Almanya
15	Işık mikroskobu	Optika	Almanya
16	Mikropipetler	CYAN	Fransa
17	5-50, 0,5-10,100-1000 µL	Argose	Belçika
18	Mikrodalga	Biobasic	Almanya
19	Mikrosantrifüj tüpleri	Polyscience	ABD
20	Su Banyosu	High media	Hindistan
21	Steril standart döngü (0,001)	BioRad	ABD
22	Power Pac HC Elektroforez	THERMO	ABD
23	Spektrofotometre (Nano damla)	P-ABC	ABD
24	PCR santrifüj tüp tutucu	Wised	Kore
25	U.V transillüminatör	Biomeriux	Fransa

3.1.2 Kimyasal ve biyolojik materyaller

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar ve biyolojik materyaller firmalarıyla birlikte Çizelge 3.2'de listelenmiştir.

Çizelge 3.2 Kimyasallar ve biyolojik materyaller

No	Kimyasallar ve Biyolojik Materyaller	Şirket	Ülke
1	AST-GN kartı	Biomeriueux	Fransa
2	AST-GP kartı	Biomeriueux	Fransa
3	ID-GN kartı	Biomeriueux	Fransa
4	ID-GP kartı	Biomeriueux	Fransa
5	Mutlak etanol	Chem-Lab	Belçika
6	Agaroz	iNtRON	Kore
7	DNA Marker merdiveni 2000-100 bp	Bioneer	Kore
8	Etidyum bromür	BioBasic	Kanada
9	Serbest nükleaz suyu	BioLabs	Birleşik Krallık
10	Gram boyama reaktifleri	Syrbio	İsviçre
11	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) %3	Al.Mothalath.	Irak
12	İnsan plazması , İnsan Kanı	Blood Bank	Wasit-Irak
13	5 mL %0,85 NaCl	Biomeriueux	Fransa
14	K3-EDTA	Afco	Ürdün
15	N, N, N, N-tetrametil-fenilen	Biomeriueux	Fransa

3.1.3 Kültür ortamı

Tüm besiyerleri üretici firma talimatlarına uygun olarak hazırlanmıştır. Besiyerlerinin sterilizasyonu 121°C'de 15 dakika boyunca 15 pound basınçta otoklavlanarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 Kültür ortamı

No	Kültür Medya	Şirket	Ülke
1	Kanlı Agar	Liofilchem	İtalya
2	Beyin-Kalp İnfüzyon Suyu	Mast group	Birleşik Krallık
3	Gliserol	Thomas Baker	Hindistan
4	MacConkey Agar	Liofilchem	İtalya
5	Mannitol Tuz Agarı	Liofilchem	İtalya
6	Mueller-Hinton Agar	Oxoid	A.B.D.

3.1.4 Çözelti ve reaktifler

Gram Boyası: Mikroskopik özellikleri belirlemek için Kristal viyole çözeltisi, Gram iyot çözeltisi, renk açıcı çözelti ve Safranin karşı boyası kullanılmıştır (Tille 2015).

İndol testi: Peptonlu su (5 mL) genç kültür ile inoküle edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Her tüpe 1-2 damla Kovacs reaktifi eklenir, pozitif sonuç kırmızı renk halkası gösterirken, negatif sonuç sarı renk gösterir (MacFaddin 2000).

Metil kırmızısı reaktifi: Reaktifler, 0,1 mg metil kırmızısının 300 mL %96'lık etanolde çözülmesi ve son hacminin distile su ile 500 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Bu preparatın amacı metil kırmızısı test özelliklerinde indikatör olarak kullanılmasıdır (Tille 2015).

Voges proskauer reaktifleri (VP): %11 VP reaktifinin, demineralize suda %89 ve %40'lık sulu KOH çözeltisinde çözünmesiyle hazırlanmıştır (Cobos-Trigueros *et al.* 2017).

Üreaz testi: 24,0 g toz 950 mL distile veya deiyonize suda süspanse edilir. Ardından tamamen çözünene kadar ısıtılır. 121°C'de 15 dakika otoklavlanır. Daha sonra 45-50°C'ye kadar soğutulur. Aseptik olarak 50 mL %40 Üre eklenir. Bu işlemten sonra steril tüplere dağıtılır ve yatık pozisyonda katılaşmaya bırakılır (Cobos-Trigueros *et al.* 2017).

Katalaz testi: Katalaz enzimi, hidrojen peroksitten su ve oksijen salınımını katalize eder ($H_2O_2 + \text{katalaz} = H_2O + O_2$). Katalaz testi birçok gram-pozitif organizmanın tanımlama şemasının anahtarıdır (Mourabit *et al.* 2021).

Koagülaz testi: *Staphylococcus aureus*'ta bulunan ve kan plazmasını pıhtılaştıran koagül enzimini (stafilokoagulase) ortaya koyma, patojenik olanlarla nonpatojenik olanları ayırmak amacı ile yapılır.(MacFaddin 2000).

Vitek 2-Test kiti:

ID-GN: ID-GN kartı 10 saat içinde 154 *Enterobacteriaceae* türünü ve glikoz fermente etmeyen gram negatif organizmaların seçilmiş bir grubunu tanımlar.

ID-GP: ID-GP kartı, 6-8 saat içinde 124 stafilokok, streptokok, enterokok türü ve seçkin bir gram pozitif organizma grubunu tanımlar.

3.2 Kitler

3.2.1 PCR bakteriyel DNA ekstraksiyonu

Bu çalışmada kullanılan PCR tespit kitleri, firmaları ve menşe ülkeleri ile Çizelge 3.4'te listelenmiştir.

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan PCR tespit kitleri

No	Kit	Firma	Ülke
1	Presto™ Mini gDNA Bakteri Kiti Gram+ Tampon GT tamponu lizis tamponu GB tampon bağlayıcı tampon Proteinaz K W1 tampon Yıkama tamponu Elüsyon tamponu GD sütunu Toplama tüpü 2mL Lizozim	Geneaid	Tayvan
2	GoTaq® Green PCR ana karışımı Taq DNA polimeraz dNTP'ler (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) Tris-HCl pH 9.0, KCl ve MgCl ₂ Stabilizatör ve yükleme boyası	Promega	ABD

3.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu primerleri

Bu çalışmada, bazı İYE bakteri bazlı 16S ribozomal RNA geninin ve bazı antibiyotik direnç genlerinin moleküler tespiti için; PCR primerleri,NCBI Genbank veri tabanı ve primer 3 kullanılmıştır. Ayrıca Çizelge 3.5, Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7'de gösterilen bu

primerler Irak'taki Scientific Research. Co. Ltd. tarafından tedarik edilmiştir. Ayrıca, bu primerlerin Genbanktan alınan ID numaraları verilmiştir.

Çizelge 3.5 Nükleotid dizileri ve ürün boyutlarıyla birlikte PCR primerleri

Primer	Sekans (5'-3')		Ürün boyutu	Genbank ID no
16S rRNA geni <i>Escherichia coli</i>	F	TCCCCATCTTTGTCCATCTC	453bp	LR739012.1
	R	AGAATACCGGTGACGAATGC		
16S rRNA geni <i>Staphylococcus aureus</i>	F	GAGGGTCATTGGAACTGGA	611bp	L37597.1
	R	TAGCACGTGTGTAGCCCCAAA		
16S rRNA geni <i>Proteus mirabilis</i>	F	CAGAAGAAGCACCGGCTAAC	368bp	LR739004.1
	R	CGGTTTCAAGACCACAACCT		
16S rRNA geni <i>Klebsiella pneumoniae</i>	F	ACCTTGCGGATTGACGTTAC	562bp	HG416956.1
	R	AAGGCACCAATCCATCTCTG		

Çizelge 3.6 Gram pozitif bakterilerle ilgili beta laktam antibiyotik direnç genleri PCR primerleri, nükleotid dizileri ve ürün boyutları

Primer	Sekans (5'-3')		Ürün boyutu	Genbank ID no
<i>Staphylococcus aureus mecA</i>	F	ACCTCTGCTCAACAAGTTCCA	683bp	KC243783.1
	R	ACCACCCAATTTGTCTGCCA		
<i>Staphylococcus aureus ermA</i>	F	AGCGGTAAACCCCTCTGAGA	306bp	KT803896.1
	R	ACAGAGTCTACACTTGGCTTAGG		
<i>Staphylococcus aureus ermC</i>	F	TGGCTCAGGAAAAGGGCATT	558bp	JF968539.1
	R	TCGTCAATTCCCGCATGTTT		

Çizelge 3.7 Gram negatif bakterilerle ilgili beta laktam antibiyotik direnç genleri PCR primerleri, nükleotid dizileri ve ürün boyutları

Primer	Sekans (5'-3')		Ürün boyutu	Genbank ID no
BlaCTX-M	F	CAGACTGGGTGTGGCATTGA	241bp	OM326869.1
	R	GCTAAGCTCAGCCAGTGACA		
blaSHV	F	TATCGGCCCTCACTCAAGGA	412bp	OL906381.1
	R	ATCGCTCATGGTAATGGCGG		
blaTEM	F	GAGAGTTTTCGCCCCGAAGA	522bp	ON221404.1

	R	AATAAACCAGCCAGCCGGAA		
blaAMPC	F	ACATCTCGCAACCTACACCG	655bp	LC455576.1
	R	ATAGCTACCAAATCCGCCGG		

3.2.3 Tetra-ARMS-PCR primerleri

Bu çalışmada TLR4 rs11536889 gen polimorfizmi için; Tetra-ARMS-PCR primerleri, NCBI-SNP veri tabanı ve Primer1 ARMS-PCR çevrimiçi tasarımı kullanılmıştır. Bu primerler Çizelge 3.8 ve Çizelge 3.9’da gösterildiği gibi Scientific Researcher. Co. Ltd. Irak firmasından temin edilmiştir.

Çizelge 3.8 TLR4 rs7873784 gen polimorfizmi için Tetra-ARMS-PCR Primerleri, dizileri ve ampikon boyutları

Primer	Sekans (5'-3')	Ürün boyutu
İleri iç primer (G aleli)	GATCAGCTGTATAGCAGAGTACG	300bp
Ters iç primer (C aleli)	TGCATAATACAGTATTGTTCATTAAAG	368bp
İleri dış primer	TTTCCATTGAAAAATAAATGGA	618bp
Ters dış primer	ATTTCCAGTTTTGACAACCTGAA	

Çizelge 3.9 TLR4 rs11536889 gen polimorfizmi için Tetra-ARMS-PCR Primerleri, dizileri ve ampikon boyutları

Primer	Sekans (5'-3')	Ürün boyutu
İleri iç primer (C aleli)	TCCTTGACCACATTTTGGGTAC	303bp
Ters iç primer (G aleli)	TGTTTTCTCAATGATAACATCCAGTC	236bp
İleri dış primer	CTCATGAAATGAGTTGCAGCAG	491bp
Ters dış primer	TAACGGCTACACCATTTCCAT	

3.3 Yöntem

3.3.1 Çalışma düzeni

Bu çalışmada, Temmuz 2022 ile Ocak 2023 tarihleri arasında, yaş ortalaması $34,09 \pm 18$ olan (10 ile 75) yaş aralığındaki kadın ve erkek hastalardan 350 idrar örneği toplanmıştır. Bu amaçla, Irak'ın güneyindeki Thi- Qar vilayetinde bulunan Al-Rifai Genel Hastanesine başvuran hastalarla yüz yüze görüşülmüştür. Bu görüşmeler sırasında hasta yaşı, cinsiyeti, belirti ve semptomları, numune alımından önceki hafta antibiyotik tedavisi alıp almadığı bilgileri not edilmiştir. İdrar yolu enfeksiyonu hastalarına, klinik ve laboratuvar kriterlerine göre tanı konmuştur. Klinik kriterler, ,belirti ve semptomlara dayanırken, laboratuvar kriterleri genel idrar muayenesini içermektedir. Hasta ve kontrol grubunda irin hücresi, bakteri ve < 105 CFU/mL bakteri içeren pozitif idrar kültürü varlığı açısından mikroskopik olarak analizler yapılmıştır. İdrar yolu enfeksiyonlarının kesin tanısı için orta akım idrar örneklerini toplamak üzere steril vidalı kapaklı kaplar kullanılmıştır. Tüm örnekler daha sonra Kanlı Agar, MacConkey Agar ve Mannitol tuzlu agara ekilmiştir. Steril bir standart halka (0,001 mL) ile 37°C 'de 24 saat ekim yapılmıştır. Saf bakteri kolonilerinin hücre morfolojisi Gram boyama reaktifleri kullanılarak incelenmiştir. Tüm bakteri izolatları biyokimyasal ve VITEK-2 sistemi ile teşhis edilmiştir. Daha sonra izolatların tamamı 16SrRNA geni ile doğrulanmış ve bir PCR testinde bakteri kolonileri kullanılarak direnç genleri tespit edilmiştir. Hasta ve sağlıklı kontrol kan örneklerinde TLR4 gen polimorfizmini (rs11536889, rs7873784) tespit etmek için Tetra-ARMS -PCR kullanılmıştır.

3.3.2 İdrar numunelerinin toplanması

15 mL orta akım idrarı, mikroskopik analiz ve bakteri ekimi için steril bir kapta temiz yakalama yöntemi kullanılarak toplanmıştır. İdrarda irin, kan, epitel hücreleri, mukus ve döküntü varlığı mikroskop altında incelenmiştir. İdrar örnekleri steril bir standart halka (0,001 mL) kullanılarak kültürlenmiştir. Tüm idrar örnekleri kanlı agar, MacConkey agar ve mannitol tuzlu agar plaklarında 24 saat boyunca kültürlenmiş, kültür ortamı aerobik olarak 37°C 'de inkübe edilmiştir. Geleneksel biyokimyasal testler (Gram Boyama, indol

testi, Katalaz testi, Koagülaz Testi) ve daha sonra tanıyı doğrulamak için VITEK-2 sistemi (ID-GN, ID-GP) kullanılmıştır (AST-GN ve AST-GP).

3.3.3 Tam kan numunelerinin toplanması

İdrar yolu enfeksiyonu (İYE) olan hastaların ve sağlıklı kontrollerin her birinden ön kol damardan 3 mL kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri K3-EDTA içeren tüplerde muhafaza edilmiş ve DNA ekstrakte edilip saflaştırılana kadar 4°C'de saklanmıştır. Amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi polimeraz zincir reaksiyonu (ARMS -PCR), hasta ve sağlıklı kontrol kan örneklerinde TLR4 gen polimorfizmini (rs11536889, rs7873784) tespit etmek için kullanılmıştır.

3.3.4 Mikroskopik muayene ve biyokimyasal test

İdrar örneğinin görünümü berrak, sarı, bulanık veya kanlı olarak kaydedilmiştir. İdrar sedimentinin mikroskopik incelemesi, idrar örneğindeki çeşitli hücre türlerini, döküntüleri ve kristalleri tanımlayarak idrar yolu hastalıklarını teşhis etmek için de yaygın olarak kullanılmaktadır (Linko *et al.* 2006). Kimyasal inceleme pH, kırmızı kan hücreleri, beyaz kan hücreleri, proteinler, glukoz, ürobilinojen, bilirubin, keton cisimleri, lökosit esteraz ve nitritleri tanımlar (Delanghe and Speeckaert 2016). Asemptomatik veya semptomatik enfeksiyonlarla ilişkili tüm idrar örnekleri hastanenin merkez laboratuvarı tarafından mikrobiyolojik olarak analiz edilmiştir (Fisher *et al.* 2018).

3.4 Mikrobiyolojik Teşhis

3.4.1 Kanlı agar besiyeri

Kanlı agar, farklı bakterilerin üremesine olanak tanıyan zenginleştirilmiş bir besiyeridir, hızlı üreyen organizmaları büyütür ve bakterileri hemolitik özelliklerine göre ayırt etmek için kullanılmıştır. Bu işlem için otoklavda sterilize edilen besiyerine 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra %5 oranında kan eklenmiştir. Daha sonra dikkatli bir şekilde (100

mL besiyeri başına yaklaşık 5 mL kan) petri kaplarına dağıtılmıştır (Niederstebruch *et al.* 2017).

3.4.2 Mannitol tuz agar besiyeri

111 g Mannitol Tuz Agarı, 1 litre deiyonize suda kaynatılarak çözüldükten sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika boyunca steril edilmiştir. Ardından 50°C'ye kadar soğutulmuş ve petri kaplarına dökülmüştür. *Staphylococcus aureus* suşları mannitol fermentasyonu nedeniyle sarı bölgelerle çevrili koloniler oluşturur (Khelissa *et al.* 2017). Mannitol fermentasyonu *Staphylococcus aureus*'un spesifik bir aktivitesidir (Kateete *et al.* 2010).

3.4.3 MacConkey agar besiyeri

MacConkey besiyerinin temel bileşenleri arasında kristal viyole boya, safra tuzları, laktoz ve nötr kırmızı (pH indikatörü) bulunmaktadır. Kristal viyole boya ve safra tuzları gram-pozitif bakterilerin büyümesini durdurarak MacConkey agarda sadece gram-negatif türlerin koloni oluşturmasını sağlar (Lagier *et al.* 2015). Çoğu Gram-negatif bakterinin birincil izolasyonu için ve laktoz fermente edenleri laktoz fermente etmeyenlerden ayırmak için kullanılmıştır. 51,5 g. Besiyeri, 1 L. Damıtılmış su içinde çözülerek besiyeri hazırlanmıştır. Daha sonra besiyeri tamamen çözünene kadar ısıtılmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Daha sonra 50°C'ye kadar soğutulup petri kaplarına dökülmüştür.

3.4.4 Beyin kalp infüzyon broth ortamı

Beyin Kalp İnfüzyon Broth Ortamı hazırlamak için 34,5 gram toz, 1 litre distile veya deiyonize suda süspanse edilerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra 121°C'de (15 psi) 15 dakika otoklavlanmıştır. Daha sonra 50°C'ye kadar soğutulup steril tüplere dağıtılmıştır. 5 mL besiyeri içeren bir tüpe sterilize edildikten sonra yaklaşık 5 mL gliserol eklenmiştir.

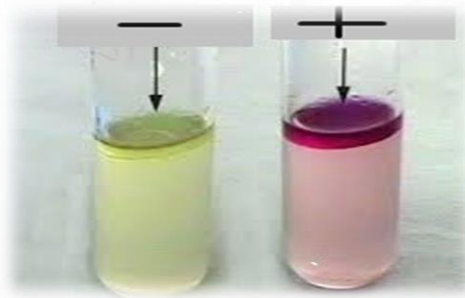
3.5 Gram Boyama

Kuru yayma işlemi için, kristal viyole çözeltisi bunsen brülör alevine 1 dakika boyunca 2 ile 3 kez yayılarak ısıyla sabitlenmesi sağlanır. Lam boyası, yıkama şişesi suyu veya yavaş akan musluk suyu ile durulanmıştır. Daha sonra iyot ile 1 dakika boyunca boyanmış ve ardından tekrar durulanmıştır. Lam yaklaşık 10-20 saniye %95 etanol (Alkol) ile yıkanmış ve yaklaşık 1 dakika safranin ile boyanmış su ile durulanmıştır. Daha sonra yavaş akan musluk suyu veya yıkama şişesi suyu ile durulanmıştır. Boyamadan sonra bakteriler gram pozitif koklar olarak görünmüştür. Küçük ve üzüm benzeri kümeler *Staphylococcus* spp.'yi yuvarlak uçlu gram negatif basiller (çubuk şeklinde) *Enterobacteriaceae*'yi göstermiştir.

3.6 Biyokimyasal Testler

3.6.1 İndol üretim testi

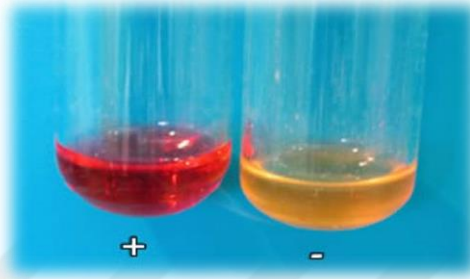
Pepton broth test edilecek izolatlar uygulanmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Ardından birkaç damla Kovac reaktifi eklenir ve hafifçe karıştırılmıştır. Kırmızı veya pembe bir halka oluşumu pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 İndol üretim testi

3.6.2 Metil kırmızısı testi

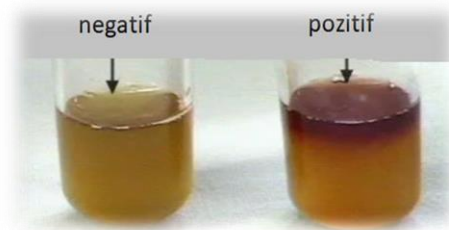
Metil kırmızısı-Voges Proskauer broth taze bakteri kültürü ile inoküle edilerek 37°C’de 24saat inkübe edilmiştir. Birkaç damla metil kırmızısı çözeltisi eklenip karıştırıldıktan sonra elde edilen parlak kırmızı renk sonucun pozitif olduğunu göstermiştir (Şekil 3.2) (Tille 2015).



Şekil 3.2 Metil kırmızısı testi

3.6.3 Voges-proskauer testi

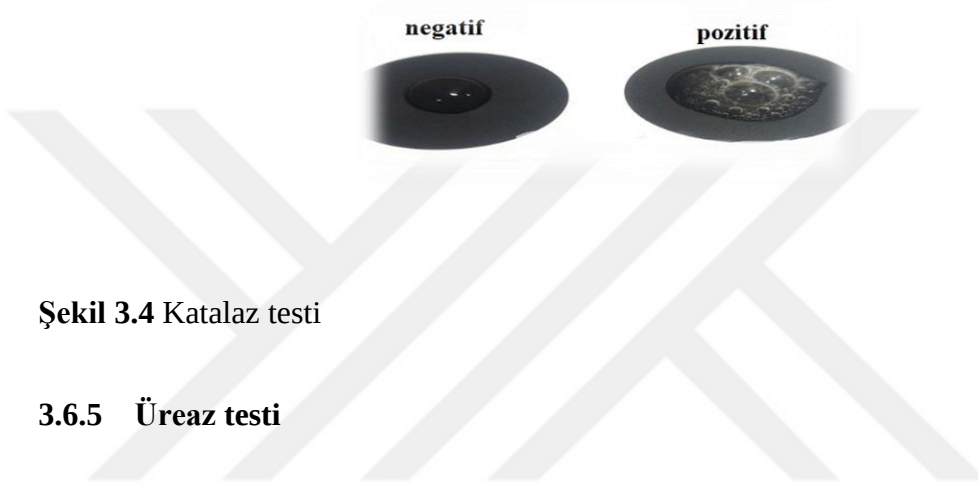
Metil kırmızısı-Voges Proskauer broth taze bakteri kültürü ile inoküle edildikten sonra 37°C’de 24saat inkübe edilmiştir. Her tüpe 10 damla %40 KOH çözeltisi ve 10 damla %5 α -naftol çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra 2 veya 5 dakika içinde pembe bir renk oluşması sonucun pozitif olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir. Voges-proskauer ve metil kırmızısı testi pozitif ve negatif sonuçları (Tille 2015), Şekil 3.3’te gösterilmiştir.



Şekil 3.3 Voges-proskauer testi ve Metil kırmızısı testi

3.6.4 Katalaz testi

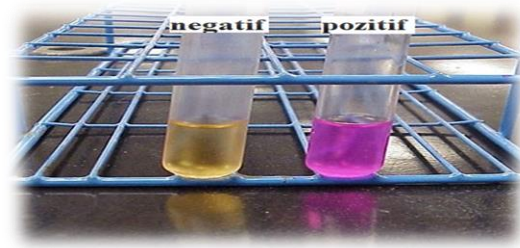
İyi izole edilmiş az miktarda bakteri kolonisi, bir halka veya sterilize edilmiş tahta çubuk kullanılarak temiz, kuru bir cam lamın yüzeyine aktarılmıştır. Cam lamın içine bir damla %3 hidrojen peroksit solüsyonu eklenmiştir. Anında kabarcıklanma olup olmadığına bakılmıştır (Mourabit *et al.* 2021). Kabarcık üretimi katalaz pozitif sonuçlarının pozitif olduğunu göstermiştir (Sarwar *et al.* 2014) (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Katalaz testi

3.6.5 Üreaz testi

Üre, amino asitlerin dekarboksilasyonunun ürünüdür. Ürenin hidrolizi sonunda amonyak ve CO₂ üretilmiştir. Amonyak oluşumu ortamı alkalileştirir ve pH değişir. Testin pozitif sonuç verdiği, fenol kırmızısının (pH 6,8'de) açık turuncudan (pH 8,1'de) pembeye renk değişimi ile tespit edilmiştir. Hızlı üreaz pozitif organizmalar 24 saat içinde tüm ortamı pembeye çevirmiştir. Zayıf pozitif organizmalar birkaç gün sürebilir ve negatif organizmalar asit üretiminin bir sonucu olarak renk değişikliği üretmez veya sarı renk üretir (Cobos-Trigueros *et al.* 2017) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Üreaz testi

3.6.6 Koagülaz testi (Topaklanma faktörü)

Bir damla normal salin solüsyonu lam üzerine yerleştirilir ve bakteri süspansiyonu eklenmiştir. Ardından bir damla seyreltilmemiş insan plazması yerleştirilerek iyice karışmaları sağlanmıştır. Ortaya çıkan kaba kümelenme gelişimi sonucun pozitif olduğunun göstergesidir (Malachowa *et al.* 2016).

3.7 Tanımlama ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testi için Vitek2 Sistemi

VITEK 2 sisteminin teknolojisi hızlı tanımlamaya olanak sağlamaktadır (Crowley *et al.* 2012). Bakteriyel tanımlama ve AST, otomatik bir VITEK 2 sistemi (BioMerieux, Fransa) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu sistemde, negatif tanımlama GN ve Gram pozitif tanımlama GP olmak üzere çeşitli kart türleri mevcuttur (Maina and Kagotho 2014) VITEK 2 Kompakt (30 kart kapasiteli) sistemi, organizma tanımlaması için 64 kuyucuklu bir kart ve duyarlılık testi için türbidimetrik bir yaklaşım kullanılmıştır.

3.7.1 Test kartı kurulum prosedürü (ID kartı ve AST kartı)

64 biyokimyasal test içeren VITEK 2 kompakt cihaz sisteminde (Biomeriueux, Fransa), Gram-pozitif bakteriler için (GP-ID kartları) ve Gram-negatif bakteriler için (GN-ID kartları) kullanılarak tanımlanmış ve doğrulanmıştır. Buna göre;

- 3,0 mL steril salin (%0,45-%0,5 NaCl, pH 4,5-7,0) şeffaf plastik bir test tüpüne aktarılmıştır.
- Yeterli miktarda saf bakteri kolonisi steril çubukla hazırlanan tuzlu su tüpüne aktarılmıştır. McFarland standardına (0,50 ile 0,63) uygun yoğunlukta homojen bir organizma süspansiyonu elde edilerek bulanıklığı ölçmek için VITEK 2 DensiCHEK Plus kullanılmıştır.
- AST-GN kartları için hazırlanan süspansiyonun 145ul'si, AST-GP kartları için hazırlanan süspansiyonun 280ul'si; 3,0 mL serum fizyolojik içeren ikinci bir tüpe aktarılmıştır. DensiCHEK ile optik yoğunluğun kontrol edilir. Daha sonra bu tüp

duyarlılık kartının bulunduğu kasete yerleştirilmiştir. İlk bakteri süspansiyonunun bulunduğu tüp, tanımlama kartının aşılması için de kullanılabilir.

- ID kartı ve tüp ile AST kartı ve tüp kasete yerleştirilmiştir.
- Tüp aktarılmış ve kart $35,5 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ 'deki karusel inkübatöre yüklenmeden önce sabitlenmiştir. Her kart her 15 dakikada bir karusel inkübatörden çıkarılmıştır. Her kart reaksiyon okumaları için optik sisteme taşınmış ve ardından bir sonraki okuma zamanına kadar inkübatöre geri gönderilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testi için Vitek 2 sistemi

3.7.2 Antimikrobiyal duyarlılık testi

GN ve GP bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılığı VITEK 2 kompakt cihaz sistemi (Biomeriueux, Fransa) kullanılarak test edilmiştir (Weinstein and Lewis 2020).

3.8 Bakterilerin Saklanması

Kısa Süreli Saklama: Bakteriler Kan Agar, Mannitol Salt Agar ve MacConkey Agar'a inoküle edilmiş ve aerobik koşullar altında 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Plakalar daha sonra parafilmle kaplanmış ve 3-4 gün boyunca 4°C 'de saklanmıştır.

Uzun Süreli Saklama: Bakteri izolatları, tek bir bakteri kültürü kolonisinin 5 mL beyin kalp infüzyon suyu içeren steril bir tüpe gece boyunca inoküle edilmesiyle birkaç ay canlı

tutulabilir. 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, inokuluma nihai %25 konsantrasyonda gliserol eklenmiş ve tüpler -20°C'de 2-8 ay boyunca saklanmıştır.

3.9 Moleküler Yöntemler

3.9.1 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR tekniği, bazı İYE bakterilerinin 16S ribozomal RNA geni ve bazı antibiyotik direnç genleri için uygulanmıştır. Bu teknikte kullanılan tüm PCR primerleri bu çalışmada tasarlanmış ve aşağıdaki adımlarla gerçekleştirilmiştir.

3.9.1.1 Bakteriyel DNA ekstraksiyonu

Bakteriyel genomik DNA, Presto™ Mini gDNA Bacteria Kiti kullanılarak bakteriyel izolatlardan çıkarılmış ve aşağıdaki adımlara göre yapılmıştır:

- Örnek hazırlama: Bir mL inkübe edilmiş kültürlenmiş bakteri hücresi (1x10⁹'a kadar) 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmıştır.
- Hücre parçalama: (i) Tüpe 180 µL GT tamponu eklenmiş ve hücre pelleti vorteks ile süspanse edilmiştir. Ardından Gram pozitif bakteriler için 100 µL lizozim eklenmiş ve karışımlar 60°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon süreleri boyunca karışım tüpleri her 3 dakikada bir ters çevrilmiştir. (ii) Her tüpe 200 µL GB tamponu eklenmiş ve 10 saniye boyunca vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra tüpler 60°C'de 10 dakika inkübe edilmiş ve inkübasyon süreleri boyunca tüpler her 3 dakikada bir ters çevrilmiştir.
- DNA Bağlama: (i) 200 µL mutlak etanol eklenmiş ve hemen vorteksle karıştırılmıştır. (ii) Bir GD kolonu 2 mL'lik bir toplama tüpüne yerleştirilmiş ve tüm karışımlar (herhangi bir çökelti dahil) GD kolonuna aktarılmış ve ardından 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Akış suyunu içeren 2 mL'lik toplama tüpleri atılmış ve GD kolonu yeni bir 2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

- Yıkama adımları: (i) GD kolonuna 400 μ L W1 tamponu eklenmiş, ardından 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Akış suyu atılmış ve GD kolonu 2 mL toplama tüpüne geri yerleştirilmiştir. (ii) GD kolonuna 600 μ L Yıkama Tamponu eklenmiştir. Ardından 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Akış suyu atıldı ve GD kolon tekrar 2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Ardından, kolon matrisini kurutmak için tüpler tekrar 12,000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.
- Elüsyon adımları: (i) Kurutulmuş GD kolon temiz bir 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve kolon matrisinin ortasına 100 μ L önceden ısıtılmış elüsyon tamponu eklenmiştir. Elüsyon tamponunun matris tarafından emildiğinden emin olmak için tüpler en az 3 dakika bekletilmiştir. Ardından saflaştırılmış DNA'yı elde etmek için 10,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

3.9.1.2 Ekstrakte edilen toplam DNA'nın tahmini

Ekstrakte edilen toplam DNA, DNA konsantrasyonunu ($\text{ng}/\mu\text{L}$) ölçen Nanodrop (Thermo Scientific NanoDrop Lite UV Visible Spectrophotometer, USA) (Şekil 3.7) kullanılarak kontrol edilmiş ve DNA saflığı absorbans (260/280 nm) değerinde aşağıdaki adımlarla kontrol edilmiştir:

- Nanodrop yazılımını açtıktan sonra uygun uygulamayı (Nükleik asit, DNA) seçilmiştir.
- Kuru bir mendil alınmış ve ölçüm kaideleri birkaç kez temizlenmiştir. Ardından 2 μ L serbest nükleaz suyu dikkatlice pipetlenmiş ve sistemi boşaltmak için alt ölçüm kaidelerinin yüzeyine yerleştirilmiştir.
- Nanodrop örnekleme kolu indirilmiş ve 1 μ L DNA örneği ölçülmüştür.



Şekil 3.7 Thermo bilimsel nanodrop

3.9.2 PCR master karışımının hazırlanması

Tüm genler için PCR ana karışım reaksiyonları GoTaq®Green PCR ana kiti kullanılarak hazırlanmış ve bu ana karışım Çizelge 3.10’da gösterildiği gibi şirket talimatlarına göre yapılmıştır. Ardından, tüm PCR tüpleri Exispin vorteks santrifüjüne 3000 rpm’de 3 dakika boyunca aktarılmış ve ardından T100 PCR Thermocycler’a (BioRad-USA) yerleştirilmiştir.

Çizelge 3.10 Standart PCR ana karışım protokolü

PCR Master Karışım	Hacim
DNA şablonu 5-50ng	5 µL
İleri primer (10 pmol)	2 µL
Ters primer (10 pmol)	2 µL
GoTaq®Green PCR master	12,5 µL
PCR su	3,5 µL
Toplam hacim	25 µL

3.9.3 Multiplex PCR ana karışımının hazırlanması

PCR master mix reaksiyonları Gram negatif ve pozitif antibiyotik direnç genlerinin tespiti için GoTaq®Green PCR master kit kullanılarak hazırlanmıştır ve bu master mix Çizelge 3.11’de belirtildiği şekilde üretici firma talimatlarına göre yapılmıştır.

Çizelge 3.11 Standart multipleks Gram negatif antibiyotik direnç genleri PCR ana karışım protokolü

PCR Ana Karışım		Hacim
DNA şablonu 5-50 ng		5 µL
İleri primer (10 pmol)	BlaCTX-M	2 µL
	blaSHV	2 µL
	blaTEM	2 µL
	blaAMPC	2 µL
Ters primer (10 pmol)	BlaCTX-M	2 µL
	blaSHV	2 µL
	blaTEM	2 µL
	blaAMPC	2 µL
GoTaq ®Green PCR master		25 µL
PCR su		4 µL
Toplam hacim		50 µL

Ardından, tüm PCR tüpleri Exispin vorteks santrifüjüne 3,000 rpm'de 3 dakika boyunca aktarılmış ve ardından T100 PCR Thermocycler'a (BioRad-USA) yerleştirilmiştir (Çizelge 3.12).

Çizelge 3.12 Standart multipleks Gram pozitif antibiyotik direnç genleri PCR ana karışım protokolü

PCR Ana Karışım		Hacim
DNA şablonu 5-50ng		5 µL
İleri primer (10 pmol)	<i>mecA</i>	2 µL
	<i>ermA</i>	2 µL
	<i>ermC</i>	2 µL
		2 µL
Ters primer (10 pmol)	<i>mecA</i>	2 µL
	<i>ermA</i>	2 µL
	<i>ermC</i>	2 µL
		2 µL
GoTaq ®Green PCR master		25 µL
PCR su		4 µL
Topla hacim		50 µL

Ardından, tüm PCR tüpleri Exispin vorteks santrifüjüne 3,000 rpm'de 3 dakika boyunca aktarılmış ve ardından T100 PCR Thermocycler'a (BioRad-USA) yerleştirilmiştir.

3.9.4 PCR thermocycler koşulları

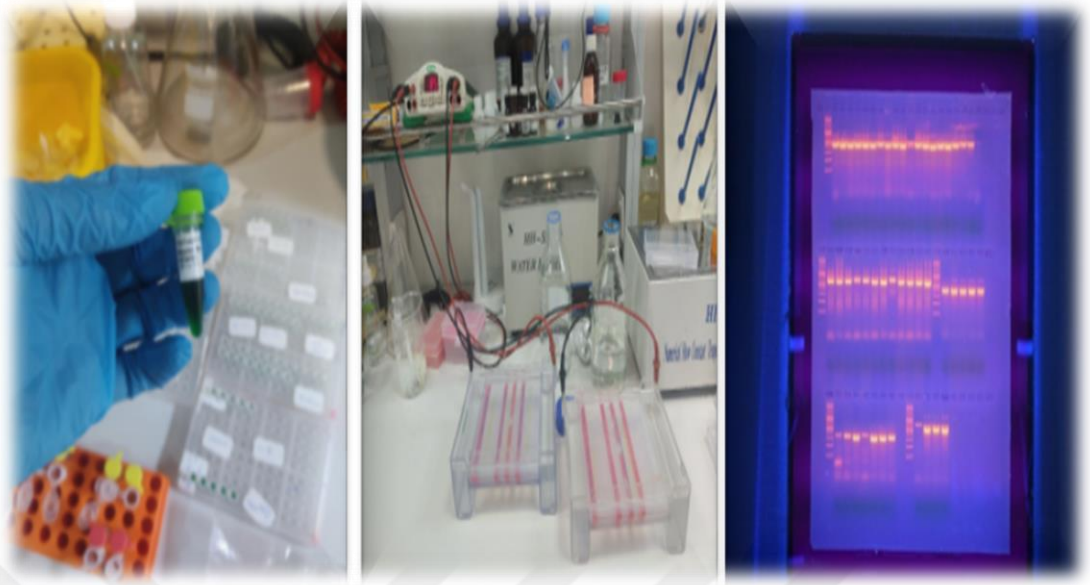
Her bir gen için PCR thermocycler koşulları protokolü Optimase Protocol Writer™ online uygulaması kullanılarak hesaplanmış ve Çizelge 3.13'e göre konvansiyonel PCR thermocycler kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3.13 PCR thermocycler koşulları

PCR adımları	Sıcaklık	Zaman	Döngü
İlk Denatürasyon	95°C	5 dk	1
Denatürasyon	95°C	30 s	35 döngü
Tavlama	58°C	30 s	
Uzatma	72°C	1 dk	
Son uzatma	72°C	5 dk	1
Tutma	4°C	Durma	-

3.9.5 PCR ürün analizi

PCR ürünleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile analiz edilmiştir: 1,5 Agaroz jel 0,5X TBE kullanılarak hazırlanmış ardından 5 dakika boyunca mikrodalgada çözülerek 50°C'de soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra agaroz jel çözeltisine 3 µL etidyum bromür boyası eklenmiştir. Agaroz jel solüsyonu, tarak uygun pozisyonda sabitlendikten sonra tepsiye dökülmüş ve oda sıcaklığında 15 dakika katılaşmaya bırakılmıştır. Ardından tarak tepside yavaşça çıkarılmıştır. Jel tepsisi elektroforez odasına sabitlenmiş ve 0,5X TBE tamponu ile doldurulmuştur. Her bir kuyucuğa 10 µL PCR ürünü yüklenmiş ve ilk kuyucuğa 5 µL (DNA marker Ladder) eklenmiştir. Ardından 1 saat boyunca 100 volt ve 80 AM'de elektrik akımı uygulanmıştır. PCR ürünleri UV Transillüminatör kullanılarak görselleştirilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 PCR çalışmaları

3.9.6 Tetra-ARMS-PCR yöntemi

İdrar yolu enfeksiyonu olan toplmada 350 hastada, TLR4 rs11536889 ve rs7873784 gen polimorfizminin tespiti ve genotiplendirilmesi için T-ARMS-PCR yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem, Rafiei *et al.* (2012) tarafından belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir:

3.9.6.1 Genomik DNA ekstraksiyonu

Kan örneklerinden genomik DNA, gSYAN DNA ekstraksiyon kiti (Dondurulmuş Kan) kullanılarak aşağıdaki adımlar izlenerek yapılmıştır:

- 200 µL dondurulmuş kan steril 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ardından 30 µL proteinaz K eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır. Son olarak 5 dakika boyunca 60°C'de inkübe edilmiştir.
- Bundan sonra, her tüpe 200 µL lizis tamponu GSB eklenmiş ve vorteks ile kuvvetlice karıştırılmıştır. Ardından tüm tüpler 10 dakika boyunca 70°C'de inkübe edilmiş ve inkübasyon süreleri boyunca her 3 dakikada bir ters çevrilmiştir.

- Lizata 200 µL mutlak etanol eklenmiş ve hemen kuvvetlice çalkalanarak karıştırılmıştır.
- DNA filtre kolonu 2 mL'lik bir toplama tüpüne yerleştirildi ve karışımın tamamı (herhangi bir çökelti dahil) kolona aktarılmıştır. Daha sonra 10,000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Akışkanın bulunduğu 2 ml'lik toplama tüpü atılmış ve kolon yeni bir 2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- DNA filtre kolonuna 400 µL W1 tamponu eklenmiş, ardından 10,000 rpm'de 30 saniye santrifüj edilmiştir. Akış atılmış ve kolon tekrar 2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- Her bir kolona 600 µL Yıkama Tamponu (etanol) eklenmiştir. Daha sonra 10,000 rpm'de 30 saniye santrifüj edilmiştir. Akış atılmış ve kolon tekrar 2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- Kolon matrisini kurutmak için tüm tüpler 10,000 rpm'de 3 dakika boyunca tekrar santrifüjlenmiştir.
- Kurutulmuş DNA filtre kolonu temiz bir 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve kolon matrisinin ortasına 50 µL önceden ısıtılmış elüsyon tamponu eklenmiştir.
- Elüsyon tamponunun matris tarafından emildiğinden emin olmak için tüpler en az 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra saflaştırılmış DNA'yı elüe etmek için 10,000 rpm'de 30 saniye santrifüj edilmiştir.

3.9.6.2 Genomik DNA tahmini

Çıkarılan kan genomik DNA'sı, DNA konsantrasyonunu (ng/µL) ölçen Nanodrop spektrofotometre (THERMO. ABD) kullanılarak kontrol edilmiş ve aşağıdaki adımlar izlenerek (260/280 nm) absorbans okunarak DNA saflığı kontrol edilmiştir:

- Nanodrop yazılımını açtıktan sonra uygun uygulama (Nükleik asit, DNA) seçilmiştir.
- Kuru bir mendil ile ölçüm kaideleri birkaç kez temizlenmiş. Ardından, sistemi boşaltmak için alt ölçüm kaidelerinin yüzeyine dikkatlice 2 µL serbest nükleaz suyu pipetlenmiştir.

- Örnekleme kolu indirilmiş ve Nanodrop'u başlatmak için Tamam'a tıklanmıştır. Ardından kaideler temizlenmiş ve ölçüme 1 µL kan genomik DNA eklenmiştir.

3.9.7 T-ARMS-PCR ana karışımın hazırlanması

T-ARMS-PCR ana karışımı GoTaq® G2 Green Master Mix kiti kullanılarak hazırlanmıştır ve bu ana karışım Çizelge 3.14 ve Çizelge 3.15’de gösterildiği gibi şirket talimatlarına göre her örnek için iki reaksiyon gerçekleştirmiştir:

Çizelge 3.14 TLR4 rs11536889 T-ARMS-PCR reaksiyon karışımı

T-ARMS-PCR Ana karışım	Hacim
DNA şablonu	5 µL
İleri iç primer (G allel) (10 pmol)	1 µL
Ters iç primer (C allel) (10 pmol)	1 µL
İleri dış primer (10 pmol)	1 µL
Ters dış primer (10 pmol)	1 µL
G2 Yeşil Ana Karışım	12,5 µL
Nükleaz içermeyen su	3,5 µL
Toplam hacim	25 µL

Çizelge 3.15 TLR4 rs7873784 ARMS-PCR reaksiyon karışımı

T-ARMS-PCR Master mix	Hacim
DNA şablonu	5 µl
İleri iç primer (G allel) (10 pmol)	1 µL
Ters iç primer (C allel) (10 pmol)	1 µL
İleri dış primer (10 pmol)	1 µL
Ters dış primer (10 pmol)	1 µL
G2 Yeşil Ana Karışım	12,5 µL
Nükleaz içermeyen su	3,5 µL
Toplam hacim	25 µL

Daha sonra, yukarıdaki tabloda belirtilen bu PCR ana karışım bileşenleri Exispin vorteks santrifüjüne 3,000 rpm’de 3 dakika süreyle aktarılmıştır. Daha sonra PCR Thermocycler (BioRad. ABD) cihazına yerleştirilmiştir.

3.9.8 PCR koşulları

PCR koşulları her gen için bağımsız olarak Çizelge 3.16 ve Çizelge 3.17'deki gibi yapılmıştır (Dieffenbach *et al* 2003):

Çizelge 3.16 TLR4 rs11536889 için PCR thermocycler koşulları

PCR adımları	Sıcaklık	Zaman	Döngü
İlk Denatürasyon	95°C	5 dk	1
Denatürasyon	95°C	30 s	35 döngü
Tavlama	60°C	30 s	
Uzatma	72°C	30 s	
Son uzatma	72°C	5 dk	1
Tutma	4°C	Süresiz	-

Çizelge 3.17 TLR4 rs7873784 için PCR thermocycler koşulları

PCR adımları	Sıcaklık	Zaman	Döngü
İlk Denatürasyon	95°C	5 dk	1
Denatürasyon	95°C	30 s	35 döngü
Tavlama	55°C	30 s	
Uzatma	72°C	1 dk	
Son uzatma	72°C	5 dk	1
Tutma	4°C	Süresiz	-

3.9.9 T-ARMS-PCR ürün analizi

T-ARMS-PCR ürünleri aşağıdaki adımlar izlenerek agaroz jel elektroforezi ile analiz edilmiştir (Medrano *et al* 2014):

- %2 Agaroz jel 1X TBE kullanılarak hazırlanmış ve 100°C'de 15 dakika su banyosunda çözüldükten sonra 50°C'de soğumaya bırakılmıştır.
- Daha sonra agaroz jel çözeltisine 3µL etidyum bromür boyası eklenmiştir.
- Agaroz jel solüsyonu, tarak uygun pozisyonda sabitlendikten sonra tepsiye dökülmüş, ardından oda sıcaklığında 15 dakika katılaşmaya bırakılmış ve daha sonra tarak tepside yavaşça çıkarılmıştır.
- Jel tepsi elektroforez odasına sabitlenmiş ve 1X TBE tamponu ile doldurulmuştur.

- Her bir tarak kuyucuğuna 10 µL PCR ürünü ve İlk kuyucuğa 3 µL (100 bp Merdiven) eklenmiştir.
- Elektrik akımı 1 saat boyunca 100 volt ve 80 mA'de gerçekleştirilmiştir.
- T-ARMS-PCR ürünleri UV transillüminatör kullanılarak görselleştirilmiştir.

3.10 Direnç Genlerinin Dizi ve Filogenetik Analizi

Bu çalışmada, *mecA*, *ermA* ve *ermC* direnç genlerinin dizi analizi için idrar yolu enfeksiyonundan izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatının DNA ürünleri kullanılmıştır. Ayrıca, *BlaCTX-M*, *BlaSHV*, *BlaTEM* ve *BlaAMPC* direnç genlerinin dizi analizi için idrar yolu enfeksiyonundan izole edilen *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının DNA ürünleri kullanılmıştır. DNA dizilemesi için DNA Kore'ye gönderilmiştir. DNA dizisini belirlemek için Sanger teknolojisini kullanılmıştır. Sonuçlar genetik mutasyonların sayısını ve türünü belirlemek için Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nde (NCBI) bulunan Temel Yerel Hizalama Arama Aracı'na (BLAST) karşı okunmuştur.

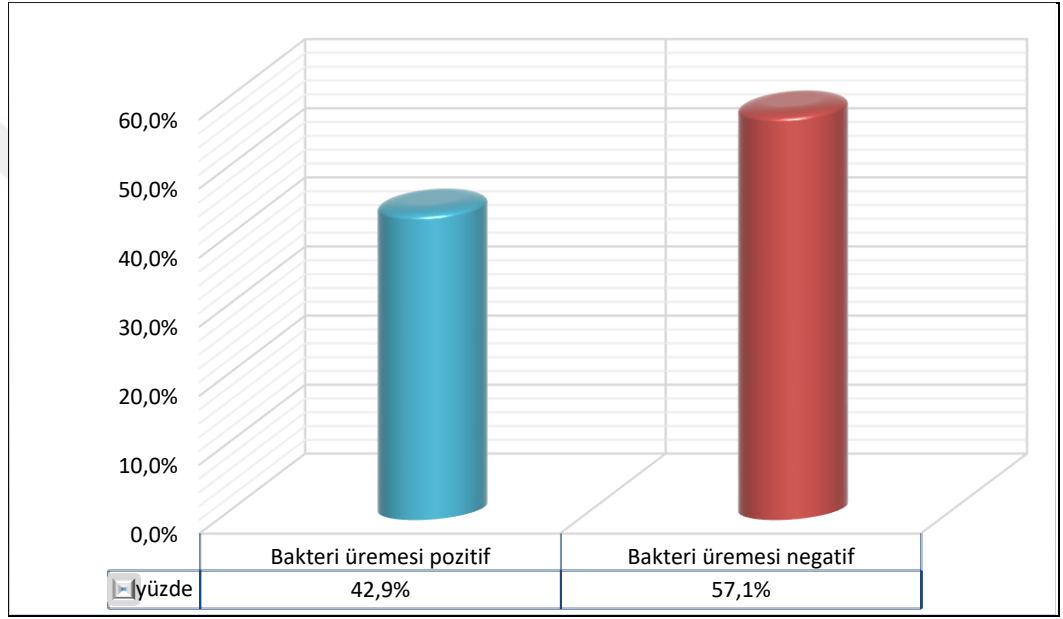
3.11 İstatistiksel Analiz

Veriler, Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi SPSS versiyon 26 ve Microsoft Office Excel 2010 kullanılarak toplanmış, özetlenmiş, analiz edilmiş ve sunulmuştur. Sayısal veriler, Kolmogorov-Smirnov normallik testi yapıldıktan ve normal ve normal dağılmayan değişkenler hakkında karar verildikten sonra ortalama, standart sapma olarak sunulmuştur. Bağımsız örneklem t-testi, değişkenin normal dağılması koşuluyla herhangi iki grup arasındaki ortalama farkını incelemek için kullanılmıştır. Tek yönlü Anova testi, değişkenin normal dağılması koşuluyla ikiden fazla grup arasındaki ortalama farkını incelemek için kullanılmıştır. Herhangi iki kategorik değişken arasındaki ilişkiyi incelemek için ki-kare testi kullanılmıştır. Riski ölçmek için odds oranı ve %95 güven aralığı hesaplanmıştır. Anlamlılık düzeyi 0,05'ten küçük P-değeri ve 0,01 veya daha küçük yüksek anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir (Daniel 1978).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Bakteri İzolasyonu

Çalışmaya yaşları (10 ile 75) arasında değişen toplamda 350 kişi katılmıştır. Bunlardan alınan idrar örneklerinde, 150'sinde (%42,9) bakteri üremesi pozitif, 200'ünde (%57,1) ise bakteri üremesi negatif bulunmuştur (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Bakteri üreme sonuçları

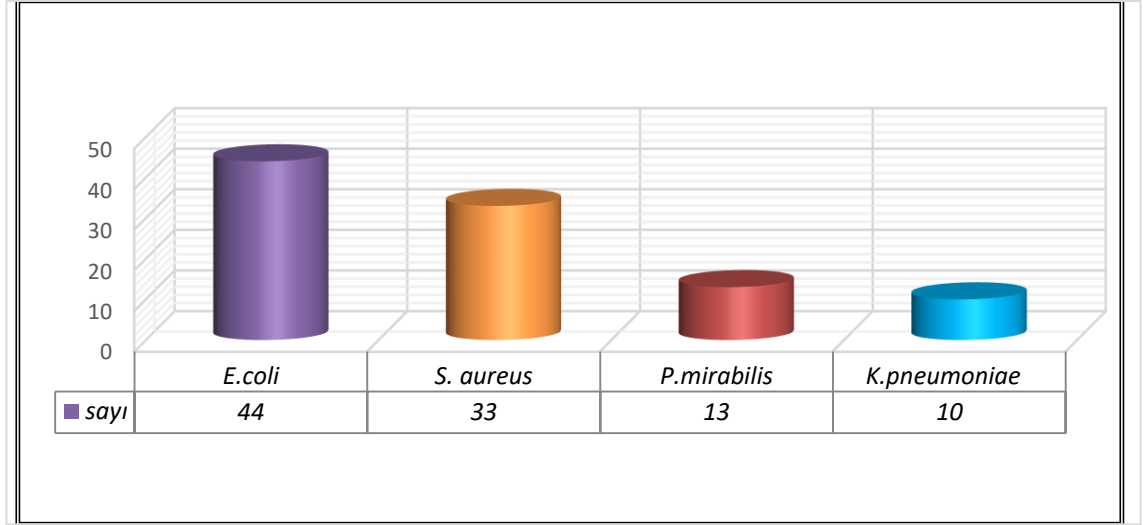
Biset *et al.* (2020) tarafından kuzeybatı Etiyopya'da 384 hastanın katıldığı çalışmada, alınan 384 idrar örneğinin 61'inde (%15,9) bakteri üremesinin pozitif, 323'ünde (%84,1) ise negatif tespit edilmiştir. Ayrıca, 320 idrar örneğinin incelendiği Muqdad (2022) tarafından yapılan başka bir çalışmada, 50 örnekte (%15,6) bakteri üremesinin pozitif, 270 (%84,4) örnekte ise negatif olarak belirlenmiştir. Ek olarak Wasmy Shahab *et al.* (2017) tarafından Kerkük'te yapılan çalışmada, bakteriyolojik kültür için negatif üreme gösteren numune yüzdesi %77,5, pozitif üreme numune yüzdesi ise %22,5 olarak kaydedilmiştir. Tüm bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar bizim sonuçlarımızda uyumluluk göstermektedir.

Ayrıca, Pakistan'ın Lahor kentinde Asmat *et al.* (2021) tarafından yapılan çalışmada, toplam 80 idrar yolu örneğinden, 65 örnekte pozitif ve 15 örnekte negatif bakteriyel üreme sonucu bulunmuştur. Nijerya'nın Akure kentinde Simon-Oke *et al.* (2019) tarafından yapılan çalışmada incelenen 300 idrar örneğinde, 183 örnekte pozitif, 117 örnekte ise negatif bakteriyel üreme tespit edilmiştir. Diğer taraftan, El-Kashif (2019) tarafından Al-Saudi'de 303 idrar örneğinin incelendiği çalışmada, 162 örnekte pozitif, 140 örnekte ise negatif üreme bulunmuştur. Bunlara ek olarak, Al-Hashmay *et al.* (2021) tarafından Irak'ın Thi-Qar ilinde yapılan ve 150 idrar örneğinin incelendiği çalışmanın sonuçları, 87 örnekte pozitif (%58) ve 63 örnekte negatif bakteriyel üreme göstermiştir. Çalışmalarda elde edilen bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla uyuşmamaktadır.

Bazı örneklerde kültür ortamında üreme görülmemiştir. Bu durum, steril piyüri veya üriner sistemde taş bulunmasından kaynaklanabilir. Ayrıca çalışmamız ile diğer çalışmalar arasındaki uyum ve uyumsuzluklar, farklı coğrafi bölgeler, İYE'nin tanınmasındaki farklılıklar, tarama yöntemleri ve karıştırıcı risk faktörleri, sosyoekonomik standartlar, eğitim programları, sağlık bakımı ve hijyen uygulamaları gibi farklı çevresel koşullar ve uygulamalardan kaynaklanıyor olabilir.

4.2 İdrardan Bakteri İzolasyonunun Tanımlanması

Çalışmamızda, PCR'a dayalı bakteriyel tanı sonuçları, İYE'ye neden olan bakteriyel patojenlerin sıklığı sırasıyla; 44 örnek (%44) *Escherichia coli*, 33 örnek (%33) *Staphylococcus aureus*, 13 örnek (%13) *Proteus mirabilis* ve 10 örnek (%10) *Klebsiella pneumoniae*'dir (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).

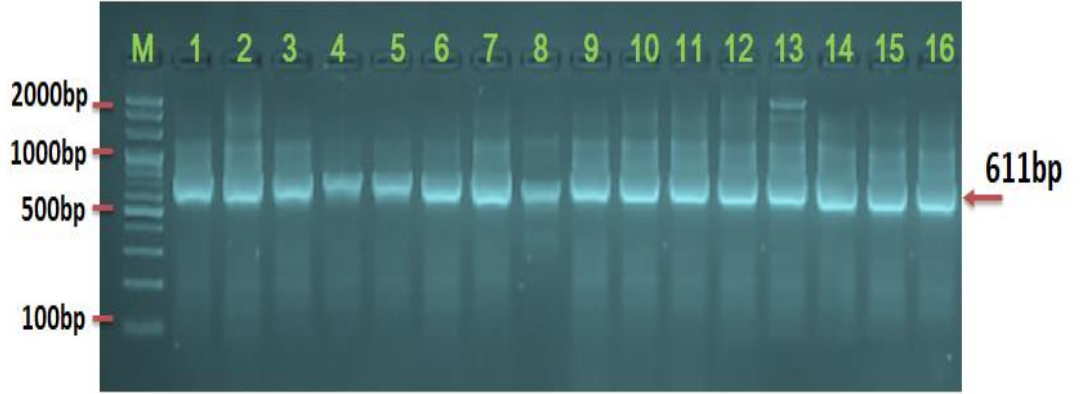


Şekil 4.2 İdrar yolu enfeksiyonu PCR tanısına göre ÇİD bakteri yüzdeleri



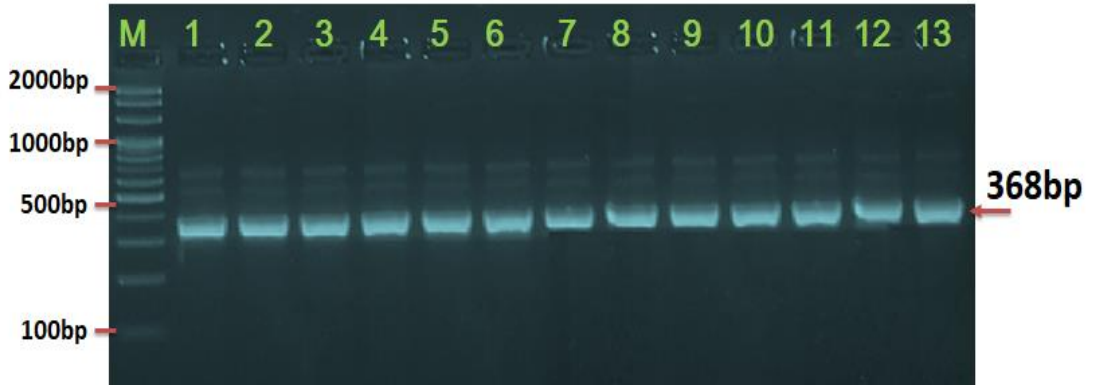
Şekil 4.3 *Escherichia coli* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (1-21) 453bp ürün boyutunda pozitif *Escherichia coli* izolatları 16S ribozomal RNA genini göstermektedir.



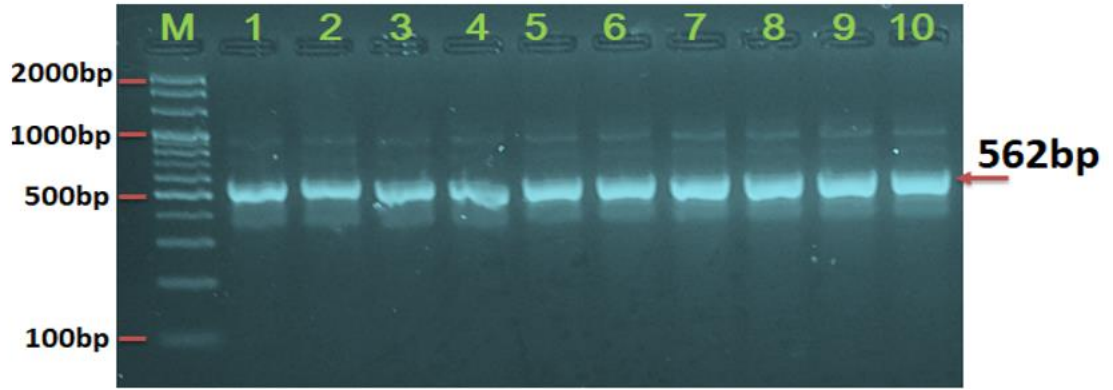
Şekil 4.4 *Staphylococcus aureus* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (1-16) 611bp ürün boyutunda pozitif *Staphylococcus aureus* izolatları 16S ribozomal RNA genini göstermektedir.



Şekil 4.5 *Proteus mirabilis* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (1-13) 368bp ürün boyutunda pozitif *Proteus mirabilis* izolatları 16S ribozomal RNA genini göstermektedir.



Şekil 4.6 *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının tespiti için 16S ribozomal RNA geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

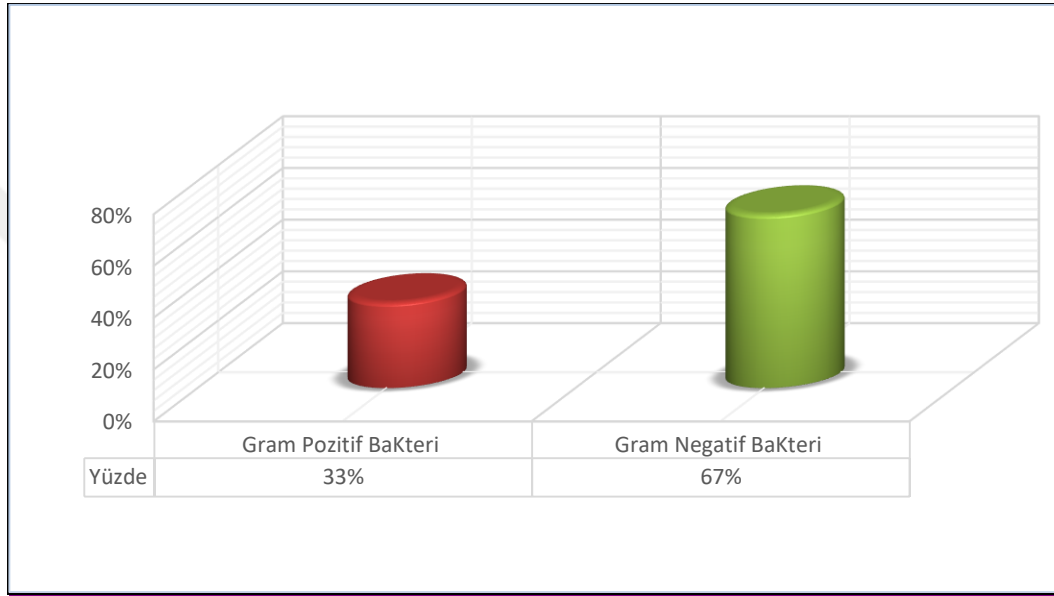
Şerit (1-10) 562bp ürün boyutunda pozitif *Klebsiella pneumoniae* izolatları 16S ribozomal RNA genini göstermektedir.

Çalışmamızda en yüksek 44 örnek ile (%44) *Escherichia coli* birinci sırada yer alırken bunu 33 örnek ile (%33) *Staphylococcus aureus* takip etmiştir. Elde edilen bu sonuç Simon-Oke *et al.* (2019), Jain *et al.* (2015), Muqdad (2022) ve Kadhim *et al.* (2022) tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu iken Al-Wazni and Hadi (2015). Tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu değildir.

E. coli, bağırsakta normal bir florada bulunur. Enfeksiyon genellikle ellerin kontaminasyonu, kadınların anatomik yapısı, üretra çevresindeki bölgenin rektuma yakınlığı nedeniyle meydana gelmektedir. Tüm bu nedenler enfeksiyonun mesaneye yükselmesine, sistite, böbreğe ilerlediğinde akut nefrite neden olabilir. Konağın mekanik savunmalarından kaçınmasına yardımcı olan faktörler arasında yer alan güçlü virülans faktörlerine, özellikle enzimlere ve yapışma faktörlerine sahip olması, patojenitesinin şiddetini artırarak İYE'lerin gelişmesinden sorumlu olabilecek akut enfeksiyonlara ve inflamatuvar yanıtı yol açar (Abass *et al.* 2018).

4.3 Gram Pozitif ve Gram Negatif ÇİD Bakterilerin Gram Boyamasına göre Frekans Dağılımı

Gram pozitif ve gram negatif ÇİD bakterilerin gram boyamasına göre frekans dağılımı Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Mevcut sonuçlar, bakteri izolatlarının 33'ünün (%33) gram pozitif bakteriler ve 67'sinin (%67) gram negatif bakteriler olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.7 İdrar yolu enfeksiyonunda ÇİD bakteri izolatlarının gram boyasına göre yüzdeleri

Asmat *et al.* (2021) tarafından Pakistan'ın Lahor kentinde, Wasmy Shahab *et al.* (2017) tarafından Irak'ın Kerkük vilayetinde ve Gebretensaie *et al.* (2023) tarafından yapılan çalışmalarda da bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak gram negatif bakterilerin oranı gram pozitif bakterilerden daha yüksek belirlenmiştir.

Ayrıca çalışmamız, Bahati *et al.* (2020) tarafından Güneybatı Uganda'da yapılan %39,2 gram negatif bakteri ve %60,8 gram pozitif bakteri tespit eden çalışmanın sonuçlarıyla uyuşmamaktadır. Buna ek olarak Al-Wazni and Hadi (2015) tarafından Irak'ın Kerkela vilayetinde yapılan çalışma sonuçlarıyla da uyumlu değildir. Çalışmamız ile diğer çalışmalar arasındaki bu farklılığın nedeni coğrafi, İYE'nin tanımlanması, tarama yöntemleri, karıştırıcı risk faktörleri, sosyal ve ekonomik normlar, eğitim girişimleri ve

sağlık politikaları gibi çeşitli çevresel koşullar ve uygulamalardan kaynaklanıyor olabilir (Tadesse *et al.* 2018).

4.4 İYE Nedenli ÇİD Bakteriyel Hastaların Demografik Özellikleri

Çizelge 4.1, bakteriyolojik tanı sonuçlarına göre çok ilaca dirençli bakterilerle idrar yolu enfeksiyonu olan hastaların yaş grubu ve yaş ortalamasının frekans dağılımının karşılaştırmasını göstermektedir. Hastaların yaş ortalaması $34,09 \pm 18,67$ 'dir. Mevcut sonuçlar, hastaların yaş gruplarına göre nüks dağılımında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($P=0,014$). Mevcut sonuçlar ayrıca, çoklu ilaca dirençli bakterilere sahip hastaların çoğunun, diğer yaş gruplarına kıyasla 40 yaş üstü gruplarda olduğunu göstermiştir. Sonuçlara göre idrar yolu enfeksiyonlarında çoklu ilaca dirençli bakterilerden muzdarip hastaların cinsiyetinin frekans dağılımı, erkekler (%33) ve kadınlar (%67) arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kentsel alan ile kırsal alan arasındaki ikamet sıklığı dağılımındaki fark 27 (%27) ve 73 (%73) olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 İdrar yolu enfeksiyonuna neden olan ÇİD bakterili hastaların demografik özellikleri

Karakteristik	Bakteri çoklu ilaç direnci (MDR) olan hastalar	P
Yaş (yıl)		
Ortalama ±SD	34,09±18,67	
Aralık	10-75	
< 20, n (%)	25 (%25,0)	0,014 ¥ S
20-29, n (%)	24 (%24,0)	
30-39, n (%)	15 (%15,0)	
≥40, n (%)	36 (%36,0)	
Cinsiyet		
Erkek, n (%)	33 (%33,0)	0,001 ¥ S
Kadın, n (%)	67 (%67,0)	
Erkek: Kadın	1: 2,03	
İkamet		
Kentsel, n (%)	27 (%27,0)	0,001 ¥ S
Kırsal, n (%)	73 (%73,0)	

n: vaka sayısı; SD: standart sapma; ¥: Ki-kare testi; S: anlamlı $P<0,05$

Sonuçlarımız, 65 yaş üstü yaş grubunun idrar yolu enfeksiyonuna daha duyarlı olduğunu tespit eden Gajdacs *et al.* (2021) ile aynı fikirdeyken, Etiyopya'da Addis Ababa'da yapılan ve en yüksek vakanın 40 yaş altı yaş gruplarında görüldüğünü tespit eden Gebretensaie *et al.* (2023) ile aynı fikirde değildir. İdrar yolu enfeksiyonu hastalarında en yüksek enfeksiyon oranının (15-29) yaş gruplarında olduğunu kaydeden Kadhim *et al.* (2022) ile de aynı fikirde değildir. Genel olarak, bu çalışmada erkeklerde İYE diğer yaş gruplarına göre daha ileri yaş gruplarında daha yaygındır. Bunun nedeni prostat büyümesi gibi bazı faktörler olabilir. Yaşlılıkta erkeklerde idrar yolu enfeksiyonuna yol açan prostat salgılarındaki antibakteriyel aktivitenin yaşa bağlı olarak azalması, ürolojik operasyonlar, diyabet, diyabetik sistopati nedeniyle bağışıklık azalmaktadır (Agbugui *et al.* 2016).

Ayrıca, bakteriyolojik tanı sonuçlarına göre pozitif bakteriyel idrar yolu enfeksiyonu olan hastaların cinsiyetinin frekans dağılımı, erkek 33 (%33) ve kadın 67 (%67) cinsiyet arasında 1: 2,03 oranında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu sonuç Biggel *et al.* (2019) ve Bazaid *et al.* (2021) tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. Kadınlar erkeklere göre İYE'ye daha duyarlıdır, çünkü üretraları erkeklere göre daha kısa ve anüse daha yakındır. Bu nedenle bağırsak florası idrar yollarına yükselir ve İYE'ye neden olur (Akgül and Karakan 2018).

Çalışmamızda, idrar yolu enfeksiyonunun yerleşim yerine göre dağılımında, kırsal kesimde idrar yolu enfeksiyonu görülme sıklığı %73 (73) iken, kentsel kesimde idrar yolu enfeksiyonu görülme oranı %27 (27) olarak belirlenmiştir. Bu durum, saf suya daha az erişim, hijyenik olmayan gıda kullanımı ve kötü yaşam koşullarından kaynaklanmaktadır (Dhodi *et al.* 2014).

4.5 Antibiyotik Duyarlılığı

Antibiyotik duyarlılık testi, AST-N222 kartları kullanılarak otomatik VITEK-2 kompakt sistemi ile değerlendirilmiştir. 33 *Staphylococcus aureus* izolatına ait antibiyotik duyarlılık testi sonuçları Çizelge 4.2'de, 44 *Escherichia coli* izolatına ait antibiyotik duyarlılık testi sonuçları Çizelge 4.3'te, 10 *Klebsiella pneumonia* izolatına ait antibiyotik

duyarlılık testi sonuçları Çizelge 4.4'te ve 13 *Proteus mirabilis* izolatına ait antibiyotik duyarlılık testi sonuçları Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 *Staphylococcus aureus* izolatlarının seçilmiş antibiyotiklerle duyarlılık testi

Antibiyotik Çeşitleri	Sonuç			P
	Dirençli örnek sayısı ve yüzde değer	Orta seviye örnek sayısı ve yüzde değer	Hassas örnek sayısı ve yüzde değer	
<i>Staphylococcus aureus</i>				P=0,001 † HS
Benzil penisilin	33 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Oksasilin	33 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Eritromisin	33 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Trimetoprim / Sülfametoksazol	2 (%6,1)	0 (%)	31 (%93,9)	
Gentamisin	25 (%75,7)	0 (%)	8 (%24,3)	
Levofloksasin	14 (%42,4)	0 (%)	19 (%57,6)	
Fusdik asit	30 (%90,9)	0 (%)	3 (%9,1)	
Moksifloksasin	4 (%12,1)	0 (%)	29 (%87,9)	
Tobramisin	21 (%63,6)	0 (%)	12 (%36,4)	
Linezolid	4 (%12,1)	0 (%)	29 (%87,9)	
Vankomisin	10 (%30,3)	0 (%)	23 (%69,7)	
Rifampin	6 (%18,2)	0 (%)	27 (%81,8)	
Tetrasiklin	33 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Klindamisin	23 (%69,7)	0 (%)	10 (%30,3)	
Siprofloksasin	4 (%12,1)	2 (%6,1)	27 (%81,8)	
Klaritromisin	33 (%100)	0 (%)	0 (%0,0)	

n: örnek sayısı; SD: standart sapma; †: bağımsız örnekler t-testi; HS: Yüksek derecede anlamlı $P \leq 0,001$

Çizelge 4.3 *Escherichia coli* izolatlarının seçilmiş antibiyotiklerle duyarlılık testi

Antibiyotik Çeşitleri	Sonuç			P
	Dirençli	Orta seviye	Hassas	
<i>Escherichia coli</i>				P=0,001 † HS
Amoksisilin	44 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Ampisilin	44 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Sefazolin	42 (%98)	0 (%)	2 (%2)	
Cefoxitin	39 (%95)	0 (%)	5 (%5)	
Seftazidim	40 (%2)	2 (%2)	2 (%96)	
Ceftriaxone	36 (%81,9)	0 (%)	8 (%18,1)	
İmipenem	0 (%)	2 (%2)	42 (%98)	
Gentamisin	10 (%43,2)	0 (%)	34 (%56,8)	
Siprofloksasin	17 (%38,6)	0 (%)	27 (%61,4)	
Levofloksasin	23 (%52,3)	0 (%)	21 (%47,7)	
Tigesiklin	10 (%22,7)	2 (%4,5)	32 (%72,8)	
Nitrofurantion	4 (%72,8)	0 (%)	40 (%27,2)	
Trimetoprim	38 (%86,4)	0 (%)	6 (%13,6)	
Eritromisin	44 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Klaritromisin	42 (%95,5)	0 (%)	2 (%4,5)	

n: örnek sayısı; SD: standart sapma; †: bağımsız örnekler t-testi; HS: Yüksek derecede anlamlı $P \leq 0,001$

Çizelge 4.4 *Klebsiella pneumonia* izolatlarının seçilmiş antibiyotiklerle duyarlılık testi

Antibiyotik Çeşitleri	Sonuç			P
	Dirençli	Orta seviye	Hassas	
<i>Klebsiella pneumonia</i>				
Amoksisilin	10 (%100)	0 (%)	0 (%)	P=0,001 † HS
Ampisilin	10 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Sefazolin	10 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Cefoxitin	10 (%100)	0 (%)	4 (%40,0)	
Seftazidim	8(%20,0)	0 (%)	2(%80,0)	
Ceftriaxone	10 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Gentamisin	2 (%20,0)	0 (%)	8 (%80,0)	
Siprofloksasin	2 (%20,0)	2 (%20,0)	6 (%60,0)	
Levofloksasin	8 (%80,0)	0 (%)	6 (%60,0)	
Tigesiklin	2 (%20,0)	0 (%)	8 (%80,0)	
Nitrofurantion	4 (%40,0)	0 (%)	6 (%60,0)	
Trimetoprim/	5 (%50,0)	0 (%)	5 (5%50,0)	
Sülfa metoksazol	10 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Eritromisin	10 (%100)	0 (%)	0 (%)	

n: örnek sayısı; SD: standart sapma; †: bağımsız örnekler t-test; HS: Yüksek derecede anlamlı $P \leq 0,001$

Çizelge 4.5 *Proteus mirabilis* izolatlarının seçilmiş antibiyotiklerle duyarlılık testi

Antibiyotik Çeşitleri	Sonuç			P
	Dirençli	Orta seviye	Hassas	
Proteus mirabilis				
Amoksisilin	13 (%100)	0 (%)	0 (%)	P=0,001 † HS
Ampisilin	13 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Sefazolin	13 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Cefoxitin	13 (%100)	0 (%)	0 (%)	
Seftazidim	8 (%2,3)	0 (%)	5 (%97,7)	
Ceftriaxone	9 (%69,2)	0 (%)	4 (%30,8)	
Gentamisin	0 (%)	0 (%)	13 (%100,0)	
Siprofloksasin	7 (%53,8)	0 (%)	6 (%46,2)	
Levofloksasin	7 (%53,8)	0 (%)	6 (%46,2)	
Tigesiklin	9 (%69,2)	0 (%)	4 (%30,8)	
Nitrofurantion	11 (%84,6)	0 (%)	2 (%15,4)	
Trimetoprim/				
Sülfa metoksazol	9 (%69,2)	0 (%)	4 (%30,8)	
Eritromisin	13 (%100)	0 (%)	0 (%)	

n: örnek sayısı; SD: standart sapma; †: bağımsız örnekler t-test; HS: Yüksek derecede anlamlı $P \leq 0,001$

Antibiyotik direnci, dirençli bakterilere atfedilen artan morbidite, mortalite ve sağlık hizmeti maliyetleri nedeniyle küresel bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Her yıl 700,000'den fazla ölüme antibiyotik dirençli bakteriler neden olmaktadır. 2050 yılında ölüm sayısının yılda 10 milyona çıkabileceği tahmin edilmektedir (CDC 2019). Çalışmamızda, *Staphylococcus aureus* izolatları arasında en yüksek direncin Benzil

penisiline (%100) karşı olduğu, bunu oksasilin (%100), Eritromisin (%100), Fusdik asit (%90,9) ve Gentamisine (%75,7) karşı direncin izlediği tespit edilmiştir.

Etiyopya'nın kuzeybatı bölgesinde Belete (2020) tarafından yapılan çalışmada toplam 50 izolatin 31'inin *Staphylococcus aureus* olduğu ve bunların en yüksek direnci Benzil penisiline karşı gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca Simon-Oke *et al.* (2019) ve Muqdad (2022) tarafından yapılan çalışmalarda da *Staphylococcus aureus* izolatlarının antibiyotik direncinin sırasıyla en yüksek benzil penisilin, oksasilin ve eritromisin olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumluluk göstermiştir.

Staphylococcus aureus'taki *mecA* geni β -laktamlara karşı dirençten sorumludur. *mecA*'nın ürünü, bakteri hücre duvarında peptidoglikanın çapraz bağlanmasında rol oynayan peptidoglikan sentez enzimi, penisilin bağlayıcı proteindir (PBP2a). Bu çalışmada, *S. aureus* suşlarının %100'ü beta-laktamaz üretmiştir. Beta-laktamaz üretiminin, *Staphylococcus aureus*'un oksasilin ve Benzil penisilinin etkisini önlemek için kullandığı önemli bir direnç mekanizması olduğu bilinmektedir. Gram-negatif bakterilerin direnç profillerini belirlemek için yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı antimikrobiyal duyarlılık testi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, izolatların *E. coli* suşlarının ampisilin (%10) dahil olmak üzere birden fazla antibiyotiğe dirençli olduğunu göstermiştir. Ayrıca *K. pneumonia* ve *Proteus mirabilis*'in (%100) ampisilin ve diğer beta-laktamaz antibiyotiklerine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Asmat *et al.* (2021) ve Bahati *et al.* (2020) tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlarla uyumludur. Mutasyonlar, kodlanan proteinlerin amino asit konfigürasyonunu değiştirir, böylece ESBL'lere penisilin ve oksimino-sefalosporinler de dahil olmak üzere daha geniş bir β -laktam antibiyotik spektrumunu hidrolize etme yeteneği kazandırır (Jena *et al.* 217).

4.6 Bakteri Örneklerinde İlaç Direnci Türü

Çalışmamızda 150 örnekte tespit edilen pozitif üreme; çoklu ilaca direnç gösteren (ÇİD) bakteri örnek sayısı 100 (%66,7), Aşırı İlaç Direnci (XDR) gösteren bakteri sayısı 30 (%20) ve antibiyotiğe duyarlı bakteri sayısı 20 (%13,3) olarak belirlenmiştir.

Staphylococcus aureus MDR 33 örnek (%22), *Staphylococcus aureus* XDR 13 örnek (%8,7), *Escherichia coli* MDR 44 örnek (%29,3), *Escherichia coli* XDR 9 örnek (%6), *Klebsiella pneumonia* MDR 10 örnek (%6,7), *Klebsiella pneumonia* 5 örnek XDR (%3,3), *Proteus mirabilis* MDR 13 örnek (%8,7) ve son olarak *Proteus mirabilis* XDR 3 örnek (%2) olarak tespit edilmiştir. Çizelge 4.6 bakteri izolasyonlarındaki ilaç direnci türlerini göstermektedir.

Çizelge 4.6 Bakteri örneklerinde ilaç direnci türleri

Bakteri örnekleri	Hassas	MDR	XDR	PDR	P
<i>Staphylococcus aureus</i>	5 (%3,3)	33 (%22)	13 (%8,7)	0(%0)	0,635 ¥: NS
<i>Escherichia coli</i>	9 (%6)	44 (%29,3)	9 (%6)	0(%0)	
<i>Klebsiella pneumonia</i>	2 (%1,3)	10 (%6,7)	5 (%3,3)	0(%0)	
<i>Proteus mirabilis</i>	4 (%2,7)	13 (%8,7)	3 (%2)	0(%0)	
Toplam	20 (%13,3)	100 (%66,7)	30 (%20)	0(%0)	

n: örnek sayısı; SD: standart sapma; ¥: ki kare testi; NS: önemli P< 0,05

Antibiyotiğe dirençli bakterilerdeki artışın nedeni, artan irrasyonel antibiyotik kullanımı, antimikrobiyallerin kontrolsüz eczanelerde kolayca bulunabilmesi, direnç genlerinin insanlar arasında aktarılması ve aşırı reçete yazılmasıdır. Tüm bunlar direncin büyümesini ve genel popülasyonda aşırı yüksek bakteriyel direnci artıran faktörlerdir. Bu da İYE'ler için yüksek potensli antibiyotiklerin aşırı kullanımına neden olarak bakteriyel direnci artırmaktadır. Üropatojenler arasında antimikrobiyal direnç, farklı direnç mekanizmalarıyla endişe verici bir şekilde artmaktadır. *S. aureus*, penisilin bağlayıcı protein-2a (PBP2a), penisilinaz, bağlanma bölgelerinin ribozomal metilasyonu ve eflüks pompalarının modifikasyonu yoluyla kendisine karşı kullanılan çoğu antibiyotiğe karşı direnç mekanizmaları geliştirmiştir. Tüm β -laktam ilaçlara benzer şekilde, *S. aureus* da tüm β -laktam antibiyotiklere dirençli olan PBP2a'nın gelişimi yoluyla metisilin direnci kazanmıştır (Foster 2017).

E. coli izolatu bu çalışmada en yaygın antibiyotik dirençli patojen olmuştur. ESBL'ler, penisilinaz ve karbapenemazlar, lipopolisakkaritlerin (LPS) modifikasyonları ve eflüks pompaları dahil olmak üzere çok çeşitli β -laktamazlar üretebilir (Poirel *et al.* 2020). *K. Pneumoniae*; birinci nesil β -laktamazların (penisiline doğal olarak dirençlidir) geliştirilmesi, geniş spektrumlu β -laktamazların yapılması, ESBL'lerin veya

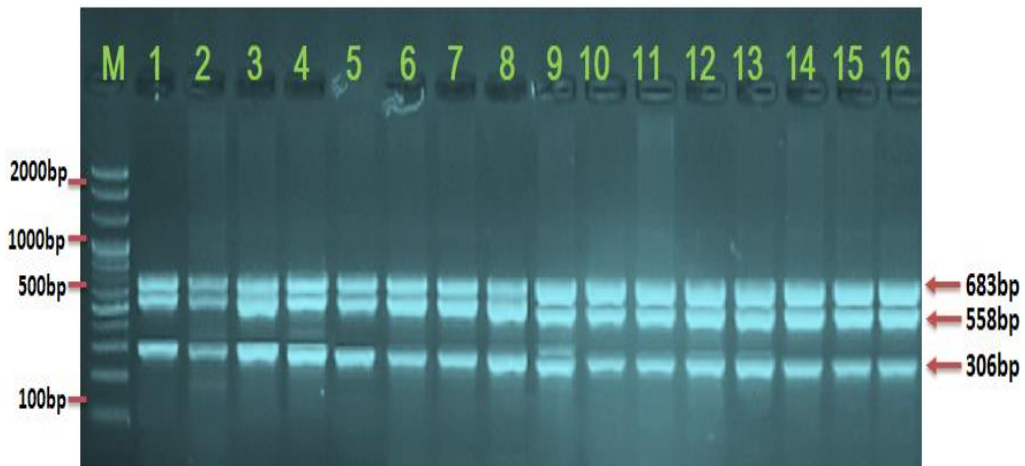
penisilinazların üretilmesi, dış membran proteinlerinin dönüşü, β -laktamazların aşırı ekspresyonu ile uyumlu bir şekilde hareket edebilen efluks pompalarının ortaya çıkması gibi karbapenemaz olmayan direnç mekanizmaları yoluyla yaygın olarak bulunan ilaçlara dirençli hale gelir (Kakoullis *et al.* 2021). *P. mirabilis*'in çoklu ilaca dirençli (MDR) suşları genellikle genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (ESBL'ler) veya AmpC tipi sefalosporinaz ve nadiren karbapenemazlar üretir. Bunların bazı ortamlarda prevalansları nispeten yüksektir (D'Andrea *et al.* 2011).

4.7 *S. aureus*'un *mecA*, *ermA* ve *ermC* Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Tespiti

S. aureus izolatları arasında *mecA*, *ermA* ve *ermC* genlerinin moleküler tespiti için spesifik PCR primeri kullanılmıştır. Bu çalışmada, her üç genin de (*mecA*, *ermA* ve *ermC*) tüm *S. aureus* izolatlarının tamamında (33'ünde (%100)) bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 *S. aureus*'un *mecA*, *ermA* ve *ermC* genlerinin tespiti

Sonuçlar	Antibiyotik dayanıklılık genleri		
	<i>mecA</i>	<i>ermA</i>	<i>ermC</i>
	Sıklık	Sıklık	Sıklık
Pozitif, n (%)	33 (%100,0)	33 (%100,0)	33 (%100,0)
Negatif, n (%)	0	0	0



Şekil 4.8 *Staphylococcus aureus* izolatlarında beta laktam antibiyotik direnç genlerinin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (1-16) *mecA*, *ermA* ve *ermC* için sırasıyla (683bp, 306 ve 558bp PCR ürün boyutu) pozitif *Staphylococcus aureus* izolatlarını göstermektedir.

Çalışmamızda *mecA* genine %100 oranında pozitif sonuç elde edilmiştir. Bu sonuç, Alghizzi *et al.* (2021) ve Al-Dmour *et al.* (2023) tarafından yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumludur. *mecA* geni, metisilin ve β -laktam grubundaki diğer ilaçlara direnç kazandırmaktan sorumlu olan PBP2a adlı bir proteini kodlar. PBP2a, β -laktam antibiyotiklere karşı düşük bir afiniteye sahiptir ve *mecA* genini taşıyan bakterilerin bunların varlığında hayatta kalmasına izin verir. PBP2a ayrıca β -laktam grubundaki diğer ilaçlara karşı çapraz direnç gösterebilir ve *mecA* genine sahip bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisini zorlaştırabilir (Grazul *et al.* 2023). Eritromisin Stafilokok direnci genellikle üç *erm* geni tarafından kodlanan metiltransferazların doğrudan aracılık ettiği diğer antibiyotik makrolidlere dirençle ilişkilidir (Zmantar *et al.* 2008).

Çalışmamızda, *S. aureus* izolatları arasında *ermA* ve *ermC* genlerinin %100 pozitif sonuç göstermiştir. Bu sonuç, MRSA izolatlarının eritromisin ve azitromisine karşı oldukça dirençli olduğunu bulan Idrees *et al.* (2023) ile uyumludur. Ayrıca, çalışmamız MRSA izolatlarının (%97) eritromisin ve azitromisine direnç gösterdiğini tespit eden Quezada-Aguiluz *et al.* (2022) ile de uyumludur. Ancak, Mahdi Al-Buhilal *et al.* (2021) ve Talebi *et al.* (2019) tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu değildir. Gelişmekte olan ülkelerde antibiyotik direncine katkıda bulunan çeşitli faktörler bulunmuştur. Bunlar arasında antimikrobiyal ilaçların kontrolü, antibiyotik direncinin ortaya çıkışının izlenmesi, klinik ortamlarda uygunsuz antibiyotik kullanımı ve tedarik edilen antibiyotikler için yetersiz kalite kontrolleri yer almaktadır. Bu topluluklar antibiyotiklere bu kadar kolay erişebildiğinden, bu tutumun sürdürülmesi, antibiyotikler hakkında genel bilgi eksikliği ve antibiyotik direnci farkındalığı nedeniyle antibiyotiklerin yanlış kullanımı ve dağıtılan antibiyotiklerin kalitesinin dikkate alınmaması gibi bir dizi soruna yol açacaktır. Tüm bu faktörler antibiyotik direncinin ortaya çıkmasına katkıda bulunabilir (Chokshi *et al.* 2019).

4.8 Gram Negatif Bakteri Türlerinin BlaCTX-M, BlaSHV, BlaTEM ve BlaAMPC Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Tespiti

Gram negatif bakteri izolatları arasında BlaCTX-M, BlaSHV, BlaAMPC ve BlaTEM genlerinin moleküler tespiti için spesifik PCR primeri kullanılmıştır. Bu çalışmada (BlaCTX-M) geninin *E. coli* izolatlarının 36'sında (%81,8), *K. pneumonia* izolatlarının 10'unda (%100,0) ve *P. mirabilis* izolatlarının 36'sında (%81,8), tüm *K. pneumonia* izolatlarının 10'unda (%100,0) ve *P. mirabilis* izolatlarının sadece 4'ünde (%30,8) gözlemlenmiş ve aradaki farkın anlamlı olduğu ($P=0,001$) bulunmuştur. BlaSHV geni *E. coli* izolatlarının 13'ünde (%29,5), , *K. pneumonia* izolatlarının 10'unda (%100,0) ve *P. mirabilis* izolatlarının 13'ünde (%100,0) tespit edilmiş olup aralarındaki fark anlamlıdır ($P=0,001$). BlaTEM geni gram negatif bakteri izolatlarının tamamında, BlaAMPC geninin ise *E. coli* izolatlarının 40'ında (%90,9), *K. pneumonia* izolatlarının tamamında 10 (%100,0) ve *P. mirabilis* izolatlarının sadece 4'ünde (%30,8) gözlenmiştir ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur ($P=0,001$) (Çizelge 4.8) (Şekil 4.9) (Şekil 4.10) (Şekil 4.11).

Çizelge 4.8 Gram negatif bakteri türlerinde BlaCTX-M, BlaSHV, BlaTEM ve BlaAMPC genlerinin tespiti

Antibiyotik direnç genleri	Bakteri örnekleri			p
	E. coli	K. pneumonia	P. mirabilis	
BlaCTX-M geni				
Pozitif, n (%)	36 (%81,8)	10 (%100,0)	4 (%30,8)	0,001 ¥ S
Negatif, n (%)	8 (%18,2)	0	9 (%69,2)	
BlaSHV geni				
Pozitif, n (%)	13 (%29,5)	10 (%100,0)	13 (%100,0)	0,001 ¥ S
Negatif, n (%)	31 (%70,5)	0	0	
BlaTEM geni				
Pozitif, n (%)	44 (%100,0)	10 (%100,0)	13 (%100,0)	
Negatif, n (%)	0	0	0	
BlaAMPC geni				
Pozitif, n (%)	40 (%90,9)	10 (%100,0)	4 (%30,8)	0,001

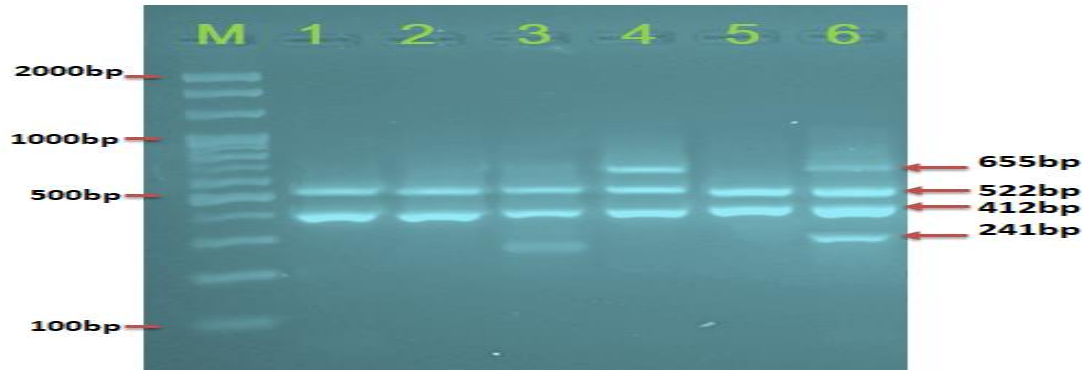
Negatif, n (%)	4 (%9,1)	0	9 (%69,2)	¥ S
----------------	----------	---	-----------	--------

SD: standart sapma; n: vaka sayısı; ¥: ki-kare testi; S: $p < 0,05$ 'te anlamlı



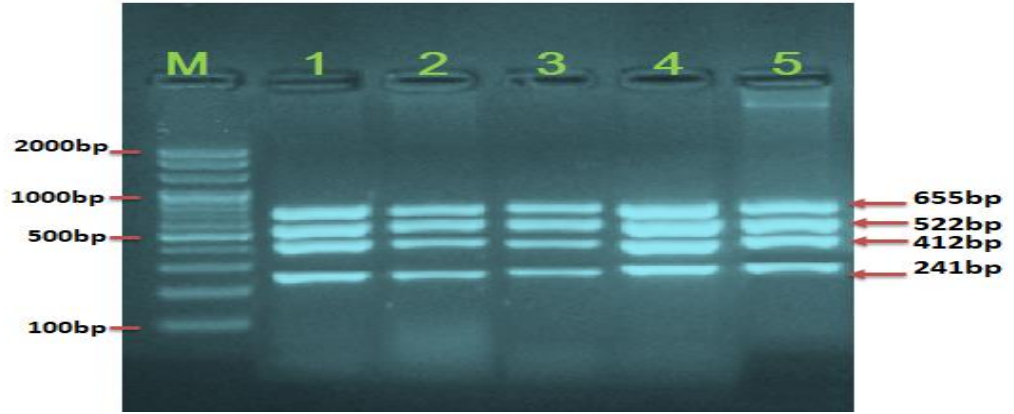
Şekil 4.9 *Escherichia coli* izolatlarında beta laktam antibiyotik direnç genlerinin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (1-19) bla-CTXM, bla-SHV, bla-TEM ve bla-AMPC için sırasıyla (241bp, 412bp, 522bp ve 655bp PCR ürün boyutunda) bazı pozitif *Escherichia coli* izolatlarını göstermektedir.



Şekil 4.10 *Proteus mirabilis* izolatlarında beta laktam antibiyotik direnç genlerinin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (1-6) bla-CTXM, bla-SHV, bla-TEM ve bla-AMPC için sırasıyla (241bp, 412bp, 522bp ve 655bp PCR ürün boyutunda) bazı pozitif *Proteus mirabilis* izolatlarını göstermektedir.



Şekil 4.11 *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında beta laktam antibiyotik direnç genlerinin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (1-5) bla-CTXM, bla-SHV, bla-TEM ve bla-AMPC için sırasıyla (241bp, 412bp, 522bp ve 655bp PCR ürün boyutunda) pozitif *Klebsiella pneumoniae* izolatlarını göstermektedir.

Sonuçlarımız, Çin'de Shi *et al.* (2015) tarafından yapılan çalışmayla uyumludur. Bu çalışmada, Çin'in farklı şehirlerindeki beş hastaneden 130 *Escherichia coli* örneği toplanmış ve bunlardan GSBL üreten izolatların 126'sında (%96,9) bla CTX-M genleri amplifiye edilmiştir. Ayrıca, 99 *K. pneumoniae* örneği izole eden Al-Sheboul *et al.* (2023) ile uyumludur. Bu sonuç Tanzanya'da Mwakyoma *et al.* (2023) tarafından yapılan ve *E. coli* izolatlarının %98,9'unda GSBL'lerin (blaCTX-M, blaTEM veya blaSHV) dağıldığını ve sadece %1'inde negatif olduğunu bulan çalışma ile de uyumludur. Bunlara ek olarak, izolatların %1'i incelenen ESBL alelleri için negatif olduğu ve klinik izolasyonda bla ampC (%80) oranında bulan Shaaban *et al.* (2022) ile aynı fikirdedir.

Ancak, Enogiomwan ve Ebe (2018) tarafından Benin City, Nijerya'da yapılan ve 350 örnekte %29,7 üropatojenik *E. coli* varlığını gösteren çalışma ile uyumlu değildir. Ayrıca, Lhwak and Abbas (2018) tarafından Dhi Qar Valiliği-Irak'ta yapılan ve hamile kadınlardan alınan 630 örnekte gram negatif bakteri oranının 90 (%14,3) olduğunu gösteren çalışmanın sonuçlarına da katılmamaktadır. Bu çalışmada bildirilen GSBL sıklığı, çoğunlukla Irak'ta antibiyotiklerin reçetelenmesi ve satışındaki kontrol

eksikliğinden ve klinik izolatların GSBL üretiminin laboratuvar taramasına özen gösterilmemesinden kaynaklanmaktadır (Shaaban *et al.* 2022).

4.9 Gen Polimorfizmlerinin Tespiti

Yaygın olarak tekrarlayan bir sorun olan İYE'ler yalnızca etkilenen bireylerin yaşam kalitesini etkilemekle kalmaz, aynı zamanda sağlık kaynaklarını da zorlar. İYE'lerin sebebi çoklu ilaca dirençli bakterilerin ortaya çıkmasıdır. Bu durum aynı zamanda tedavisürecini zorlaştırır. Enfeksiyon duyarlılığına ve direncine katkıda bulunan altta yatan faktörleri anlamak çok önemlidir. Çalışmanın TLR4 gen polimorfizmine odaklanması, TLR4'ün bakteriyel enfeksiyonları tanıma ve bunlara yanıt vermedeki önemli rolü göz önüne alındığında bu durum özellikle önem arz etmektedir (Noreen *et al.* 2012).

Çalışmamızda, spesifik genlerdeki genetik varyasyonların incelenmesi ve İYE duyarlılığının genetik bileşeninin araştırılması amaçlanmıştır. TLR4 gen polimorfizminin çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu İYE'lerle nasıl ilişkili olduğunu anlamak sadece akademik açıdan ilgi çekici değil, aynı zamanda önemli klinik çıkarımlara da sahipti olmamız konusunda da önemlidir. TLR4 gen polimorfizminin çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu İYE'lerle nasıl ilişkili olduğunun anlaşılması, genetik olarak bu tür enfeksiyonlara yatkın olanlar için risk değerlendirmesi, erken tanı ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerine yardımcı olabilir. Çalışmanın örnekleminin Irak'ın güney bölgelerinden seçilmesi, sağlık sonuçlarının bölgesel sağlık altyapısı, sağlık hizmetlerine erişim ve bu bölgeye özgü genetik çeşitliliği kapsayan coğrafi faktörlerden derinden etkilenebileceğinin kabul edilmesi açısından önem taşımaktadır. Bu yerelleştirilmiş yaklaşım, bulaşıcı hastalıkları araştırırken bölgesel varyasyonları dikkate almanın önemini vurgulamaktadır. Alele özgü Polimeraz Zincir Reaksiyonu (ARMS-PCR) ve türevleri, genotipleme için kullanılan güçlü moleküler biyoloji teknikleridir (Alyethodi *et al.* 2021). ARMS-PCR, durumdan sorumlu spesifik mutasyonları teşhis etmek ve kategorize etmek için kullanılabilir. ARMS-PCR, adli genetikte, özellikle DNA profili oluşturma ve babalık testi içeren durumlarda insan kimliğinin belirlenmesi için uygulama

alanı bulur. Bireylerin belirli genetik belirteçlerle ayırt edilmesinde önemli bir rol oynayarak sonuçların güvenilirliğini ve doğruluğunu sağlar (Alyethodi *et al.* 2021).

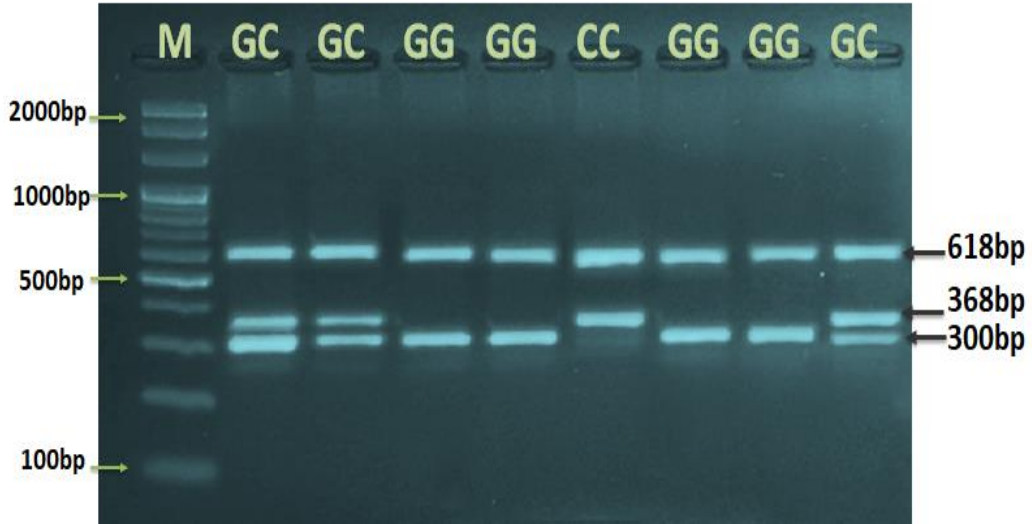
Araştırma ve epidemiyoloji alanında, ARMS-PCR popülasyonlar içindeki genetik varyasyonları keşfetmek için bir araç olarak hizmet eder. Bu veriler alel veya mutasyon prevalansını ve bunların hastalıklarla bağlantılarını anlamamıza katkıda bulunur. Böylece halk sağlığı stratejilerini ve araştırma metotlarını yönlendirir. Özellikle genetik bileşeni olan hastalıklarda, ARMS-PCR ile genotipleme, bu tür durumların erken tespitinde etkili olabilir (Alyethodi *et al.* 2021).

ARMS-PCR, hastalık risk değerlendirmesi, ilaç yanıtlarının tahmini, farmakogenomik, kalıtsal genetik bozuklukların teşhisi, doğum öncesi tarama, adli uygulamalar, epidemiyoloji, erken hastalık tespiti ve hastalık ilerlemesinin izlenmesini kapsayan çeşitli nedenlerle tıp ve sağlık hizmetleri alanında önemli bir değere sahiptir. ARMS-PCR, çeşitli hastalıklarla ilişkili genetik varyasyonları belirlemek için etkili bir şekilde kullanılabilir. Örneğin kanser genetiği bağlamında bir bireyin belirli tıbbi koşullara duyarlılığını değerlendirmek için temel bilgiler sağlar (Rahaman *et al.* 2021). Bu da zamanında müdahale ve tedaviyi kolaylaştırarak potansiyel olarak hasta sonuçlarının iyileşmesini sağlar. Belirli senaryolarda, bir hastalığın ilerleyişi ARMS-PCR kullanılarak belirli genetik belirteçler izlenerek takip edilebilir. Bu izleme, tedavi etkinliğini değerlendirmek ve bu nedenlerle gerekli ayarlamaları yapmak için değerlidir. ARMS-PCR, çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu İYE'lerde genetik polimorfizmi tespit etmede hayati bir rol oynar. Kullanılan bu genotipleme tekniğinin önemi, direnç mekanizmalarının tanımlanması, tedavi seçimi, aşırı antibiyotik kullanımının azaltılması, kişiselleştirilmiş tedaviler, tedavi başarısızlıklarının önlenmesi, epidemiyolojik sürveyans, direncin erken tespiti, araştırma ve geliştirme ile ilişkili çeşitli yönlerle örneklendirilebilir. ARMS-PCR, antibiyotiklere direnç kazandıran spesifik genetik mutasyonları veya varyasyonları tespit etmek için kullanılabilir. Bu, antibiyotik direncinden sorumlu spesifik genlerin ve altta yatan direnç mekanizmalarının belirlenmesine yardımcı olduğu için özellikle çok ilaca dirençli bakteriler söz konusu olduğunda kritik öneme sahiptir. Antibiyotik direnciyle bağlantılı genetik

polimorfizmlerin anlaşılması, sağlık hizmeti sağlayıcılarının İYE tedavisinde antibiyotik seçimi konusunda daha bilinçli kararlar almasını sağlar (Drake 2010).

4.10 TLR4-rs7873784 Polimorfizminin Tespiti

TLR4-rs7873784 polimorfizminin dağılımı ARMS-PCR tekniği ile tespit edilmiştir. Bu lokusta üç genotip vardır; GG, GC ve CC. Yabani tip homozigot genotip 300 bp ürün boyutunda sadece G aleli amplifikasyonu göstermiştir. Mutant tip homozigot genotip sadece 368 bp ürün boyutunda C aleli amplifikasyonu göstermiştir. Heterozigot genotipte ise G ve C alelleri sırasıyla 618 bp ürün boyutunda amplifikasyon göstermiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 TLR4 rs7873784 G/C gen polimorfizmi için T-ARMS-PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (GG) vahşi tip homozigot 300bp T-ARMS-PCR ürününde sadece G alelini göstermiştir. (CC) mutant tip homozigot şeridi 368bp T-ARMS-PCR ürününde sadece C alelini gösterirken, (GC) heterozigot 300bp ve 368bp T-ARMS-PCR ürününde hem G hem de C aleli olarak gösterilmiştir. Dış iç kontrol 618bp T-ARMS-PCR ürününde gözlenmiştir.

4.10.1 Hardy Weinberg denklemi (TLR4-rs7873784)

TLR4-rs7873784 genotiplerinin, GG, GC ve CC, kontrol grubu içindeki dağılımına Hardy Weinberg denklemi uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Homozigot vahşi genotip GG 100 kontrol deneğinin 55'inde; heterozigot GC genotipi 100 kontrol deneğinin 30'unda ve homozigot mutant CC genotipi 100 kontrol deneğinin 15'inde görülmüştür. Kontrol deneklerinin TLR4-rs7873784 genotiplerine göre gözlenen dağılımı beklenenden oldukça farklıdır ($P=0,017$).

Çizelge 4.9 Hardy Weinberg denklemi (TLR4-rs7873784)

Genotipler	Gözlemlenen	Beklenen	χ^2	P
Homozigot referans GG	55	49	8,163	0,017 ¥ S
Heterozigot GC	30	42		
Homozigot varyant CC	15	9		

¥: Ki-kare testi; S: $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı

4.10.2 Hastalarda ve sağlıklı kontrollerde çalışılan gen için genotipik ve alel analizi

TLR4-rs7873784 SNP'ye ilişkin genotip ve alel frekanslarının hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki karşılaştırması Çizelge 4.10'da gösterilmiştir. Eş baskın mod ile ilgili olarak, hasta ve kontrol grupları arasında genotiplerin frekans dağılımında anlamlı farklılık vardır ($P=0,001$). Risk analizi homozigot CC genotipinin önemli bir risk faktörü olduğunu ($OR=2,9$), heterozigot GC genotipinin de önemli bir risk faktörü olduğunu ($OR=4,35$) ortaya koymuştur. Bu da homozigot CC genotipine sahip hastaların diğer genotiplere sahip hastalara kıyasla yaklaşık üç kat daha fazla hastalık geliştirme olasılığı olduğu anlamına gelmektedir. Baskın mod analizine bakıldığında, hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p>0,05$). Alel analizi açısından da hasta

ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark vardır ($P=0,001$). Ancak resesif mod ile ilgili olarak, hastalar ve kontrol grupları arasında anlamlı olmayan bir fark vardır ($p>0,05$).

Çizelge 4.10 Hastalarda ve sağlıklı kontrollerde TLR4-rs7873784 poli genotip sıklığı

Mod	TLR4-rs7873784	Hasta n=100	Kontrol n=100	P	OR	95% CI
Co-dominant	CC	19 (%19,0)	15 (%15,0)	0,001	2,9	1,2-6,65
	G/C	57 (%57,0)	30 (%30,0)	¥	4,35	2,26-8,35
	GG	24 (%24,0)	55 (%55,0)	S	Referans	
Dominant	CC+G/C	76 (%76,0)	45 (%45,0)	0,001	Referans	
	GG	24 (%24,0)	55 (%55,0)	¥ S	0,258	0,14-0,47
Çekinik	CC	19 (%19,0)	15 (%15,0)	0,451	1,32	0,63-2,79
	G/C+GG	81 (%81,0)	85 (%85,0)	¥ NS	Referans	
Alle	C	95 (%47,5)	60 (%30,0)	0,001 ¥	2,11	1,4-3,18
	G	105 (%52,5)	140 (%70,0)	S	Referans	

¥: Ki-kare testi; NS: $P>0,05$ düzeyinde anlamlı değil; S: $P\leq 0,05$ düzeyinde anlamlı

4.10.3 İdrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda sosyo-demografik özelliklere göre ARMS-PCR bulgularının karşılaştırılması

İdrar yolu enfeksiyonu olan hastaların sosyo-demografik özelliklerinin frekans dağılımının ARMS-PCR sonuçlarına göre karşılaştırılması Çizelge 4.11'de gösterilmiştir. GG genotipine sahip hastaların yaş ortalaması $34,75\pm 21,61$, GC genotipine sahip hastaların yaş ortalaması $36,36\pm 17,84$ ve CC genotipine sahip hastaların yaş ortalaması $26,42\pm 15,81$ olup, yaş ile ARMS-PCR sonuçları arasında hem sıklık ($p=0,093$) hem de yaş ortalaması ($p=0,130$) açısından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca cinsiyet ile ARMS-PCR sonuçları arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0,067$).

Çizelge 4.11 İdrar yolu enfeksiyonu olan hastaların sosyo-demografik özelliklerinin frekans dağılımının ARMS-PCR sonuçlarına göre karşılaştırılması

Karakteristik	GG genotip n=24	GC genotip n=57	CC genotip n=19	P
Yaş				
Ortalama $\pm$ SD	34,75 $\pm$ 21,61	36,36 $\pm$ 17,84	26,42 $\pm$ 15,81	0,130 † NS
>20, n (%)	9 (%37,5)	10 (%17,5)	6 (%31,6)	0,093 ¥
20-29, n (%)	4 (%16,7)	12 (%21,1)	8 (%42,1)	NS

30-39, <i>n</i> (%)	2 (%8,3)	11 (%19,3)	2 (%10,5)	
≥40, <i>n</i> (%)	9 (%37,5)	24 (%42,1)	3 (%15,8)	
Cinsiyet				
Erkek, <i>n</i> (%)	4 (%16,7)	24 (%42,1)	5 (%26,3)	0,067 ¥ NS
Kadın, <i>n</i> (%)	20 (%83,3)	33 (%57,9)	14 (%73,7)	
İkamet				
Kent, <i>n</i> (%)	5 (%20,8)	19 (%33,3)	3 (%15,8)	0,242 ¥ NS
Kırsal, <i>n</i> (%)	19 (%79,2)	38 (%66,7)	16 (%84,2)	

n: vaka sayısı; SD: standart sapma; †: ANOVA testi; ¥: Ki-kare testi; NS: P 0,05'te anlamlı değil

4.10.4 Genotipin bakteri türlerine göre frekans dağılımı

Genotipin bakteri türlerine göre frekans dağılımı Çizelge 4.12'de gösterilmiştir. Mevcut sonuçlar, bakteri türleri ile ARMS-PCR sonuçları arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir ($p=0,017$).

Çizelge 4.12 Genotip frekans dağılımının bakteri türlerine göre karşılaştırılması

Karakteristi k	Bakteri örnekleri				p
	E. coli	S. aureus	K. pneumonia	P. mirabilis	
Genotip					
GG, n (%)	11 (%25,0)	9 (%27,3)	0	4 (%30,8)	0,017
GC, n (%)	28 (%63,6)	20 (%60,6)	6 (%60,0)	3 (%23,1)	¥
CC, n (%)	5 (%11,4)	4 (%12,1)	4 (%40,0)	6 (%46,1)	S

SD: standart sapma; *n*: vaka sayısı; ¥: ki-kare testi; S: $p < 0,05$ 'te anlamlı

Bu çalışmada incelenen ilk tek nükleotid polimorfizmi (SNP) rs7873784'tür, bu SNP'de G nükleik asidi bu lokustaki ana aleldir ve birden fazla nükleik asit formuna (A, C veya T) dönüşme potansiyeli vardır. TOPMED frekans tahmincisine göre, bu SNP'nin alternatif C aleli 0,164846 frekansında mevcuttur ve Katar popülasyonu bu SNP için 0,116 ile nispeten daha düşük bir frekans sergilemektedir. Bununla birlikte, bu SNP için kaydedilen en düşük frekans 0,084 ile Japon popülasyonunda bulunmaktadır. İlginç bir şekilde, çalışmamız minör alel C'nin incelenen Iraklı hastalar arasında 0,475 oranında bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu yüksek frekansın nedeni, rs7873784 SNP'nin

incelenen popülasyondaki dağılım modelleriyle ilişkili çeşitli teknik ve teknik olmayan faktörlerle bağlantılı olabilir. Bu göze çarpan farklılıkların teknik bir açıklaması, bu teknik sınırlama nedeniyle mevcut araştırmada kullanılan sınırlı örneklem büyüklüğüne atfedilebilir, elde edilen sonuçlar çalışma için seçilen belirli bireylerden etkilenmiş olabilir (Lawi *et al.* 2022).

Ayrıca, bu çalışmada kullanılan genotipleme ve veri analizi yöntemlerinin doğruluğu da bu bulgulara katkıda bulunabilir. Alternatif olarak, incelenen popülasyonun belirli bir genetik yapıya sahip az sayıda kurucudan türemiş olması mümkündür. Bu da belirli genetik varyantların korunmasına ve hatta zenginleşmesine yol açabilir. Söz konusu minör alel de dahil olmak üzere, Irak önemli ölçüde genetik çeşitlilik sergilemektedir ve benzersiz genetik profillere sahip alt popülasyonlar olabilir. Çalışılan İYE hastaları, minör alel sıklığının daha yüksek olduğu bir alt popülasyona ait olabilir. Çalışmamızda, İYE hastaları ile kontrol grubu arasındaki genotip sıklığı dağılımında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,001$). Bu farklılık, bu mod altında kontrol grubuna kıyasla hastaların genetik bileşiminde önemli bir farklılaşmaya işaret etmektedir. Yapılan risk analizi ise genotipler ve hastalığa yatkınlık arasındaki ilişki hakkında daha fazla bilgi sağlamıştır.

Homozigot CC genotipi, bu genotipe sahip bireylerin diğer genotiplere sahip bireylere kıyasla hastalığa yakalanma olasılığının yaklaşık üç kat daha fazla olduğunu gösteren 2,9'luk bir olasılık oranıyla (OR) önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, heterozigot G/C genotipine sahip bireyler de 4'lük bir OR ile önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Hastalığa yatkınlığı artırmadaki rolünün altını çizerek, dominant mod analizimizden elde edilen bulgular, hastalar ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olduğunu göstermiş ve dominant alelin varlığının hastalığa katkıda bulunabileceğini ima etmiştir. Bununla birlikte, tam anlamlılık düzeyi (p -değeri) 0,05'ten büyüktür, bu da bu modun hastalığa yatkınlıkla alel analizimizdeki eş baskın mod kadar güçlü bir şekilde ilişkili olmayabileceğini düşündürmektedir.

Söz konusu alellerin İYE gelişme riskinde rol oynadığına işaret eden bu bulgu, hastalığa genetik duyarlılığı değerlendirirken bireysel alelleri göz önünde bulundurmanın önemini vurgulamaktadır. Öte yandan, çekinik moda ilişkin analizimiz hastalar ve kontrol grubu

arasında anlamlı bir fark ortaya koymamıştır ($p>0,05$). Bu, çekinik alelin iki kopyasının varlığının hastalığa yatkınlığı önemli ölçüde etkilemediği anlamına gelmektedir. Bununla birlikte, örneklem büyüklüğü ve diğer faktörler istatistiksel sonucu etkileyebileceğinden, bu moddaki anlamsızlığın bir ilişki olasılığını dışlamadığını belirtmek çok önemlidir (Korneev *et al.* 2020).

İdrar yolu enfeksiyonlarında önemli bir rol oynayabilecek rs7873784 SNP polimorfizmi nispeten sınırlı bir ilgi görmüştür. Bu alandaki literatürün göze çarpan yokluğu, araştırmamızın önemini vurgulamaktadır. İdrar yolu enfeksiyonları, halk sağlığı üzerinde önemli etkileri olan yaygın bir tıbbi sorundur (Wagenlehner *et al.* 2022). İYE'lere yatkınlık, ilerleme ve tedaviye yanıtta genetik faktörlerin etkileşimi giderek daha fazla araştırılan bir konudur (Degtyareva *et al.* 2021). Bununla birlikte, İYE hastalarında rs7873784 ve polimorfizmi ile ilgili gözle görülür bir araştırma boşluğu vardır. Çalışmamız, rs7873784 polimorfizmi ve İYE'ler arasındaki potansiyel bağlantıya ilişkin ilk kavrayışlardan birini sunarak bu bilgi boşluğunun doldurulmasına katkıda bulunmaktadır. Bu spesifik genetik varyantın incelenmesi, İYE etiyolojisini anlamamızı geliştirebilecek potansiyel ilişkileri ortaya çıkarmaya yardımcı olmuştur. Bu ilişkiyi araştırmak için titiz bir metodoloji ve veri analizi kullanılmıştır. Ancak, rs7873784 SNP ve İYE arasındaki ilişki üzerine mevcut araştırmaların azlığı, bizi bu SNP'nin diğer hastalıklar ve metabolik sendromlardaki rolünü araştırmaya yöneltmiştir.

Sonuç olarak, araştırılan rs7873784 SNP'si kanser, *diabetes mellitus*, romatoid artrit ve diğer çeşitli patolojik durumlar da dahil olmak üzere geniş bir hastalık yelpazesinde değişken katkılar göstermiştir. rs7873784 SNP'sinin minör C aleli çeşitli tıbbi durumlarla ilişkilidir. Özellikle, Çin popülasyonunda artmış romatoid artrit riski ile ilişkilendirilmiştir (Yang *et al.* 2022). Ayrıca, bu SNP kronik inflamasyon ile karakterize geniş bir patoloji spektrumu ile ilişkiler göstermiştir (Korneev *et al.* 2020). Birleştirilmiş meta-analizler, çeşitli etnik popülasyonlarda rs7873784 polimorfizmi ile tüberküloz arasında önemli ilişkiler olduğunu doğrulamıştır. Varshney *et al.* (2022) tarafından yapılan çalışmada kontrol grubu ile akut solunum sıkıntısı sendromu grubu arasında rs7873784'ün GG genotipinin frekanslarında farklılıklar olduğunu ve kontrol grubunda frekansların belirgin şekilde daha yüksek olduğu bildirilmiştir ($P=0,000$).

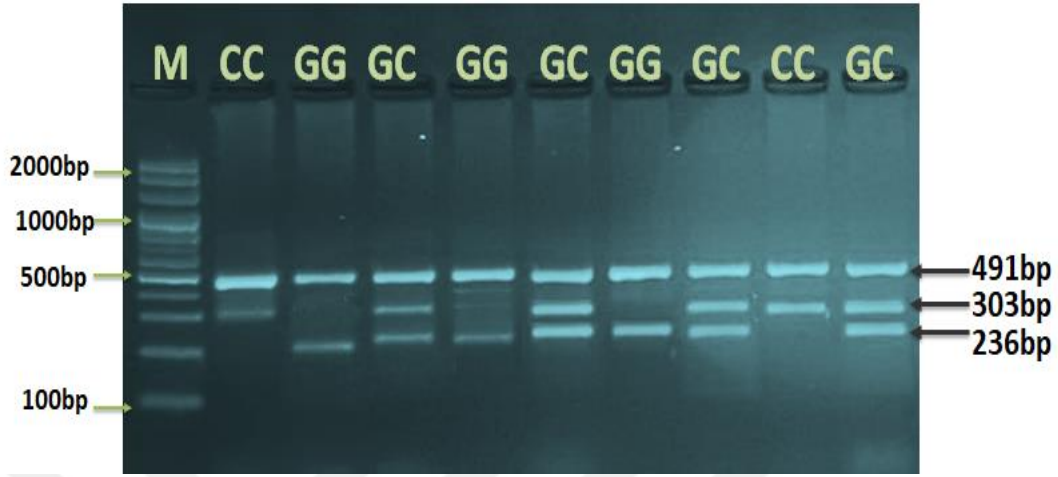
İlginç bir şekilde, akut solunum sıkıntısı sendromu grubundaki CC ($P=0,034$) ve CT ($P=0,000$) genotiplerine sahip hastalarda serum TLR4 konsantrasyonu kontrol grubundan daha yüksektir. Ayrıca, çalışmalar rs7873784'ün ruh sağlığı üzerindeki etkisini araştırmıştır (Wang *et al.* 2020). rs7873784-G alelinden etkilenen TLR4'ün, daha yüksek anksiyete skorlarının kanıtladığı gibi, majör depresif bozukluğu olan hastalarda anksiyete, intihar ve diğer semptomlarda önemli bir rol oynadığını bulmuştur. Ruh sağlığının ötesine geçerek, Şili popülasyonunda rs7873784 ile daha yüksek periodontitis olasılığı arasında bir ilişki olduğu ortaya çıkmıştır (Leite *et al.* 2019). Başka bir çalışma da rs7873784'ün minör C aleli için homozigotluk ile prostat kanserinin ilerlemesi arasında önemli bir bağlantı olduğunu vurgulamıştır (Jin *et al.* 2017). Lojistik analiz, rs7873784'ün eklemeli ve baskın modellerde tüberküloz ile karmaşık olan tip-2 diabetes mellitus riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir. rs7873784'ün homozigot ve heterozigot mutantlarına sahip taşıyıcılar, 1,61'lik bir olasılık oranıyla, vahşi tip homozigotlara göre daha yüksek bir riske sahiptir (Wang *et al.* 2017).

Ayrıca, çeşitli çalışmalar rs7873784 ile prostat kanserinin ilerlemesi arasında ters ilişki olduğunu bildirmiştir (Shui *et al.* 2012). Bu durum, bu SNP'nin belirli popülasyonlarda prostat kanserinin ilerlemesine karşı koruyucu bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, bir çalışmada rs7873784'ün 0,71'lik bir olasılık oranıyla kolorektal kansere karşı önemli ölçüde koruduğu bulunmuştur (Tsilidis *et al.* 2009). Mevcut sonuçlar ayrıca SNP rs7873784 ile yaş grupları, cinsiyet ve ikametgâh arasında anlamlı olmayan bir ilişki olduğunu göstermiştir ($P<0,05$). TLR-4 gen polimorfizmleri İYE'lere yatkınlıkla ilişkili olabilir, ancak bu ilişki popülasyonlar ve hastalık türleri arasında farklılık gösterebilir (Yin *et al.* 2010).

4.11 TLR4-rs11536889 Polimorfizminin Tespiti

TLR4-rs11536889 polimorfizminin dağılımı ARMS-PCR tekniği ile tespit edilmiştir. Bu lokusta GG, GC ve CC olmak üzere üç genotip bulunmaktadır. Yabani tip homozigot genotip 236 bp ürün boyutunda sadece G aleli amplifikasyonu gösterirken, mutant tip homozigot genotip 303 bp ürün boyutunda sadece C aleli amplifikasyonu göstermiştir.

Heterozigot genotipte ise G ve C alelleri sırasıyla 491bp ürün boyutunda amplifikasyon göstermiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 TLR4 rs11536889 G/C gen polimorfizmi için T-ARMS-PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü

Şerit (GG) vahşi tip homozigot 236bp T-ARMS-PCR ürününde sadece G alelini göstermiştir. Şerit (CC) mutant tip homozigot 303bp T-ARMS-PCR ürününde sadece C aleli gösterirken, (GC) heterozigot 236bp ve 303bp T-ARMS-PCR ürününde hem G hem de C aleli olarak gösterilmiştir. Dış iç kontrol 491bp T-ARMS-PCR ürününde gözlenmiştir.

4.11.1 Hardy Weinberg denklemi (TLR4-rs11536889)

TLR4-rs11536889 genotipleri, GG, GC ve CC'nin kontrol grubu içindeki dağılımına Hardy Weinberg denklemi uygulanmış ve sonuçlar Homozigot vahşi genotip GG'ye 100 kontrol deneğinin 77'sinde rastlanmıştır. Heterozigot GC genotipi 100 kontrol deneğinin 13'ünde ve homozigot mutant CC genotipi 100 kontrol deneğinin 10'unda görülmüştür (Çizelge 4.13). Kontrol deneklerinin TLR4-rs11536889 genotiplerine göre gözlenen dağılımı beklenenden oldukça farklıdır ($P=0,001$).

Çizelge 4.13 Weinberg denklemi (TLR4-rs11536889)

Genotipler	Gözlenen	Beklenen	χ^2	P
------------	----------	----------	----------	---

Homozigot referans GG	77	69,7	27,92	0,001 ¥ HS
Heterozigot GC	13	27,6		
Homozigot varyant CC	10	2,7		

¥: Ki-kare testi; HS: P<0,05 düzeyinde yüksek derecede anlamlı

4.11.2 Hastalarda ve sağlıklı kontrollerde çalışılan gen için genotipik ve alel analizi

TLR4-rs11536889 SNP'ye ilişkin genotip ve alel frekanslarının hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki karşılaştırması Çizelge 4.14'te gösterilmiştir. Eş baskın mod ile ilgili olarak, hasta ve kontrol grupları arasında genotiplerin frekans dağılımında anlamlı farklılık vardır (p=0,019). Risk analizi homozigot CC genotipinin anlamlı bir risk faktörü olduğunu (OR=1,82), heterozigot G/C genotipinin ise anlamlı olmayan bir risk faktörü olduğunu (OR=2,7) ortaya koymuştur. Bu da homozigot CC genotipine sahip hastaların diğer genotiplere sahip hastalara kıyasla hastalık geliştirme olasılığının yaklaşık iki kat daha fazla olduğu anlamına gelmektedir. Baskın mod analizine bakıldığında, hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (p>0,05). Alel analizinde de hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark vardır (P=0,007). Ancak resesif mod ile ilgili olarak, hastalar ve kontrol grupları arasında anlamlı olmayan bir fark vardır (p>0,05).

Çizelge 4.14 Hastalarda ve sağlıklı kontrollerde TLR4-rs11536889 poli genotip sıklığı

Mod	TLR4-rs11536889	Hasta n=100	Kontrol n=100	P	OR	95% CI
Co-dominant	CC	14 (%14,0)	10 (%10,0)	0,019 ¥ S	1,82	0,75-4,40
	G/C	27 (%27,0)	13 (%13,0)		2,7	1,2-5,70
	GG	59 (59,0)	77 (%77,0)		Referans	
Dominant	CC+G/C	41 (41,0)	23 (%23,0)	0,006 ¥ S	Referans	
	GG	59 (%59,0)	77 (%77,0)		0,429	0,23-0,79
Çekinik	CC	14 (%14,0)	10 (%10,0)	0,384 ¥ S	1,46	0,61-3,47
	G/C+GG	86 (%86,0)	90 (%90,0)		Referans	
Allel	C	55 (%27,5)	33 (%16,5)	0,007 ¥ S	1,92	1,18-3,11
	G	145 (%72,5)	167 (%83,5)		Referans	

¥: Ki-kare testi; NS: P<0,05 düzeyinde anlamlı değil; S: P≤0,05 düzeyinde anlamlı

4.11.3 İdrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda sosyo-demografik özelliklere göre ARMS-PCR bulgularının karşılaştırılması

İdrar yolu enfeksiyonu olan hastaların sosyo-demografik özelliklerinin frekans dağılımının ARMS-PCR sonuçlarına göre karşılaştırılması Çizelge 4.15'te gösterilmiştir. GG genotipli hastaların yaş ortalaması 33,94±19,45, GC genotipli hastaların 33,40±18,05 ve CC genotipli hastaların 36,00±17,58 olup, yaş ile ARMS-PCR sonuçları arasında hem sıklık (p=0,117) hem de yaş ortalaması (p=0,913) açısından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca cinsiyet ile ARMS-PCR sonuçları arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,658).

Çizelge 4.15 İdrar yolu enfeksiyonu olan hastaların sosyo-demografik özelliklerinin frekans dağılımının ARMS-PCR sonuçlarına göre karşılaştırılması

Karakteristik	GG genotip n=59	GC genotip n=27	CC genotip n=14	P
Yaş				
Ortalama ± SD	33,94±19,45	33,40±18,05	36,00±17,58	0,913 † NS
>20, n (%)	19 (%32,2)	4 (%14,8)	2 (%14,3)	0,117 ¥-NS
20-29, n (%)	10 (%16,9)	9 (%33,3)	5 (%35,7)	
30-39, n (%)	7 (%11,9)	7 (%25,9)	1 (%7,1)	
≥40, n (%)	23 (%39,0)	7 (%25,9)	6 (%42,9)	
Cinsiyet				
Erkek, n (%)	21 (%35,6)	7 (%25,9)	5 (35,7%)	0,658 ¥-NS
Kadın, n (%)	38 (%64,4)	20 (%74,1)	9 (%64,3)	
İkamet				
Kentsel, n (%)	19 (% 32,2)	5 (%18,5)	3 (%21,4)	0,365 ¥-NS
Kırsal, n (%)	40 (%67,8)	22 (%81,5)	11 (%78,4)	

n: vaka sayısı; SD: standart sapma; †: Anova testi; ¥: Ki-kare testi; NS: P<0,05'te anlamlı değil

4.11.4 Genotipin bakteri türlerine göre frekans dağılımı

Genotipin bakteri türlerine göre frekans dağılımı Çizelge 4.16'da gösterilmiştir. Mevcut sonuçlar, bakteri türleri ile ARMS-PCR sonuçları arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir (p=0,001).

Çizelge 4.16 Bakteri türlerine göre genotip frekans dağılımının karşılaştırılması

Karakteristik	Bakteri türleri				p
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>P. mirabilis</i>	
Genotip					
GG, n (%)	28 (%63,6)	12 (%36,4)	10 (%100)	9 (%69,2)	0,001
GC, n (%)	13 (%29,5)	14 (%42,4)	0	0	¥
CC, n (%)	3 (%6,8)	7 (%21,2)	0	4 (%30,8)	S

SD: standart sapma; n: vaka sayısı; ¥: ki-kare testi; S: p<0,05'te anlamlı

rs7873784 SNP'ye ek olarak, rs11536889 SNP'nin genotiplendirilmesi tipik olarak bu genetik varyasyonu taşıyan bireyleri belirlemek ve TLR4 geniyle ilişkili hastalıkların gelişiminde genetik değişkenliğin rolü hakkında bilgi edinmek için kullanılır. TLR4 geninin 3'-UTR'sinde bulunan rs11536889 SNP de bu araştırmada inceleme konusudur. rs7873784 SNP'ye benzer şekilde, rs11536889 SNP'deki ana alel G'dir ve değişen sıklıklarda A veya C ile yer değiştirme potansiyeline sahiptir. TOPMED frekans veri tabanına göre, rs11536889 SNP'sinin minör aleli C, 0,107 gibi nispeten düşük bir frekans sergilemektedir. Bu frekansın frekans değerlendirmesi için kullanılan yöntemle bağlı olarak değişebileceğini belirtmek önemlidir. Bu alelin en yüksek frekansı Vietnam popülasyonunda 0,262 olarak bildirilirken, Katar popülasyonu 0,06 ile en düşük frekansı göstermiştir.

Çalışmamızda minör C aleli, incelenen Iraklı hastaların %0,275'inde tespit edilmiştir. İncelenen Iraklı hastaların %275'inde minör C alelinin sıklığındaki bu artış, rs11536889 SNP'sinin incelediğimiz Irak popülasyonundaki dağılımına katkıda bulunmuş olabilecek teknik ve teknik olmayan faktörlerin bir kombinasyonuna atfedilebilir. Bu sonuçlarda gözlemlediğimiz varyasyonlar, teknik yönleri incelediğimizde potansiyel olarak birkaç faktörle açıklanabilir. Dikkate alınması gereken önemli bir faktör, mevcut çalışmada kullanılan sınırlı örneklem büyüklüğüdür. Bu özel sınırlama, sonuçları önemli ölçüde etkileme potansiyeline sahiptir. Dikkate alınması gereken bir diğer kritik husus, bu araştırmada kullanılan genotipleme ve veri analizi yöntemlerinin doğruluğudur (Abondio *et al.* 2023).

Veri toplama ve analiz süreçleri sırasında meydana gelebilecek herhangi bir potansiyel hata veya yanlılık, alel frekanslarının şişirilmesine neden olabilir. Ek olarak, Irak'taki önemli genetik çeşitliliği göz önünde bulundurmak önemlidir (Lazim *et al.* 2020).

Benzersiz genetik profillere sahip farklı alt popülasyonların olması tamamen mümkündür. Odaklandığımız İYE hastaları böyle bir alt popülasyona ait olabilir ve bu da incelenen minör alelin daha yüksek frekansını açıklayabilir. Bu nedenlerle, incelenen SNP'lerden rs7873784 ve rs11536889'un analiz edilen popülasyonda Hardy-Weinberg Dengesini takip etmediği belirlenmiştir. TLR4-rs11536889 SNP ile ilgili olarak genotiplerin ve alel frekanslarının kapsamlı bir karşılaştırması hasta grubu ile sağlıklı bir kontrol grubu arasında yapılmıştır.

Bu analizin sonuçları, hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki genotip dağılımında, eş baskın mod analizine göre istatistiksel olarak anlamlı bir değere sahip olmuştur. Spesifik olarak, homozigot CC genotipi, 1,82'lik bir olasılık oranıyla (OR) önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Bu genotipe sahip bireylerin diğer genotiplere sahip olanlara kıyasla hastalığa yakalanma olasılığının yaklaşık 1,82 kat daha fazla olduğunu göstermektedir. Ayrıca, heterozigot G/C genotipi, 2,7'lik nispeten daha yüksek bir OR'ye sahip olmasına rağmen, önemli olmayan bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Bu durum, G/C genotipine sahip bireylerin hastalığa karşı duyarlılığının artmış olabileceğini düşündürmektedir. Baskın mod analizi göz önüne alındığında, hasta ve kontrol grupları arasında bir fark vardır, ancak p-değeri ($p > 0,05$) bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermiştir. Benzer şekilde, alel analizinde, hastalar ve kontrol grubu arasında 0,007 p-değeri ile anlamlı bir fark bulunmuştur.

Bu, TLR4-rs11536889 SNP için alel dağılımının iki grup arasında önemli ölçüde değiştiğini ve bunun potansiyel olarak hastalığa yatkınlık bağlamında önemli olabileceğini göstermektedir. Öte yandan, çekinik modu incelerken, 0'ı aşan bir p-değeri ile gösterildiği gibi, hastalar ve kontrol grupları arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Bu durum, bu SNP için resesif kalıtım modunun bu popülasyonda hastalığa yatkınlıkta önemli bir rol oynamayabileceğini düşündürmektedir. Buna göre bulgularımız TLR4-rs11536889 SNP'nin özellikle homozigot CC genotipine sahip bireyler için artmış hastalık riski ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, bu popülasyonda hastalığa yatkınlığa katkıda bulunan genetik faktörleri anlamamız açısından önemli çıkarımlara sahiptir.

Toll benzeri reseptör (TLR) yolağındaki gen polimorfizmleri ile idrar yolu enfeksiyonlarına (İYE) yatkınlık arasındaki bağlantıyı araştıran çeşitli çalışmalar yapılmıştır. 18-49 yaş arası kadınlara odaklanan popülasyon temelli bir vaka kontrol çalışmasında, TLR4_A896G polimorfizminin 987 Kafkasyalı kadından oluşan bir alt grupta tekrarlayan sistite (rUTI) karşı korumayla bağlantılı olduğu, ancak piyelonefritle bağlantılı olmadığı keşfedilmiştir. Başka bir çalışmada, RFLP-PCR kullanılarak 129 İYE hastasında TLR4 A (896) G ve CXCR1 G (2608) C polimorfizmlerinin varlığı araştırılmış ve TLR4 A (896) G polimorfizminin hastaların %16,3'ünde mevcut olduğu ortaya konmuştur (Yin *et al.* 2010).

Bununla birlikte, İYE hastalarında rs11536889 polimorfizmine ilişkin mevcut literatür sınırlıdır. İYE hastaları bağlamında bu spesifik genetik polimorfizm olan rs11536889'a ilişkin literatürün yokluğu, bilimsel araştırmanın eksik olduğu bir alanı vurgulamaktadır. Bu boşluk, bu genetik varyasyonun İYE duyarlılığı veya ilerlemesindeki potansiyel rolüne ilişkin veri ve içgörülerin azlığının altını çizmektedir. Bu boşluğun kapatılması, İYE'lerin genetik yönlerine ilişkin değerli bilgiler sunabilir ve bu enfeksiyonları teşhis etme, tedavi etme ve önleme becerimizi potansiyel olarak geliştirebilir. Bununla birlikte, rs11536889 polimorfizmi, sepsis hastalarında böbrek, pıhtılaşma ve karaciğer organ yetmezliği dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir ve bu da daha yüksek gram-negatif enfeksiyon insidansı ile bağlantılı olabilir. 3'-UTR içindeki konumu, TLR4 rs11536889'un C varyantının translasyonu düzenleyerek TLR4 ekspresyonunu etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu düzenleme, TLR4'ün iki spesifik mikro-RNA (miR-642a ve miR-1236) ile bağlanma motifinin bozulmasıyla ortaya çıkmaktadır (Ding *et al.* 2017). Spesifik olarak, TLR4 rs11536889'un CC ve CT genotiplerinin, aynı genin diğer genotipleri arasında, Batı Hindistan'da artmış servikal kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Pandey *et al.* 2019).

Bu SNP ayrıca 310 etnik Çinli bireyi içeren bir çalışmada mide kanseri için potansiyel bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (OR: 3,58) (Castano-Rodriguez *et al.* 2014). Ayrıca, istatistiksel analiz Kore popülasyonunda rs11536889 ile prostat kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Kim *et al.* 2012). TLR4 genindeki diğer SNP'ler arasında rs11536889, lösemili çocuklarda kemoterapiye bağlı nötropeni riskinin

artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Miedema *et al.* 2011). Ayrıca, rs11536889 polimorfizmi meme kanseri ile bir ilişki göstermiş ve bu malignite için prognostik bir belirteç olma potansiyeline işaret etmiştir (Yang *et al.* 2013). TLR4 rs11536889 genotipi, Çinli sepsis hastalarında hastaneye yatış sırasında yaygın damar içi pıhtılaşma, trombositopeni ve trombosit sayılarının başlangıcı ile anlamlı bir ilişki sergilemiş ve trombositlerin TLR4 yolları üzerinde potansiyel etkileri olduğunu düşündürmüştür (Jiang *et al.* 2022). PCR-RFLP kullanılarak 142 şizofreni hastası ve 175 sağlıklı kontrolü içeren bir çalışmada, Mısır popülasyonunda rs11536889 ile şizofreniye yatkınlık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Mostafa *et al.* 2022). TLR4 SNP rs11536889'un analizi, talaromikozlu, talaromikozsuz ve sağlıklı kontrol grupları arasında genotip dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir (Wang *et al.* 2021). Özellikle Doğu Asya popülasyonlarında TLR4 polimorfizmlerine bağlı olarak konakçı doğal bağışıklığındaki genetik varyasyonların öneminin altını çizmektedir (Hishida *et al.* 2010).

Servisit hastalarında, TLR4 rs11536889 CC genotipinin kontrollere kıyasla daha yaygın olduğu bulunmuştur. Ayrıca TLR4 rs11536889'un C alelinin Hindistan'daki popülasyonlarda servisit riskini artırdığı gösterilmiştir (Chauhan *et al.* 2019). Ayrıca, rs11536889 C aleli, daha yüksek amfizem riski ile önemli ölçüde ilişkilendirilmiştir (Ito *et al.* 2012) ve daha yüksek gram-negatif enfeksiyon insidansı ile bağlantılı olup, sepsis hastalarında organ yetmezliğinin yararlı bir belirteci olma potansiyelini göstermektedir (Mansur *et al.* 2014). Japon popülasyonunda, TLR4 genindeki rs11536889 SNP'nin minör C aleli, amfizem gelişme riskinin artmasıyla ilişkili görünmektedir (Ito *et al.* 2012). rs11536889'un varyant genotipinin, karaciğer transplantasyonundan sonra Hepatit B virüsünün nüksetmesiyle önemli ölçüde ilişkili olduğu bulunmuştur (Zhou *et al.* 2011). Çeşitli hastalık risklerine dahil olmasının yanı sıra, rs11536889 SNP'si çeşitli hastalıkların gelişimine karşı koruyucu roller de sergilemiştir. rs11536889'un minör C aleli, mide bağırsak metaplazisinin ilerlemesiyle ters ilişkili olup, bu durumun gelişimine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Nieuwenburg *et al.* 2021).

Araştırmamızda, rs11536889 frekansının hem erkekler hem de kadınlar arasındaki dağılımını araştırmak için karşılaştırmalı bir analiz yapılmıştır. Birincil hedeflerimizden biri, bu genetik varyantın iki cinsiyet arasındaki dağılımında önemli farklılıklar olup

olmadığını tespit etmektir. Çalışma sonuçlarımız, erkekler ve kadınlar arasında İYE duyarlılığındaki iyi belgelenmiş farklılıklara rağmen, rs11536889'un iki cinsiyet arasındaki dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmediğimizi göstermektedir. Bulgularımız rs11536889'un cinsiyet, yaş, alkol tüketimi, sigara kullanımı gibi değişkenler açısından Parkinson hastalığına yatkınlıkla herhangi bir ilişki sergilemediğini gösteren bir çalışmayla uyumludur (Li *et al.* 2019). Bununla birlikte, sonuçlarımız, erkek deneklerde rs11536889'un GC genotipinin, kadın deneklerdeki GG genotipine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek akut aort diseksiyonu riski taşıdığını gösteren diğer bulgularla çelişmektedir (Li *et al.* 2020). Bu durum, hastalık duyarlılığı ve sonuçlarında cinsiyete özgü etkileri ve genetik varyasyonları dikkate almanın önemini vurgulamaktadır. TLR4 geni içindeki SNP rs11536889, bir dizi hastalık ve durumla ilişki göstermiştir. Bununla birlikte, bu ilişkilerin doğası, belirli hastalığa ve incelenen popülasyona bağlı olarak değişebilir. Artan riskler, koruyucu roller olarak ortaya çıkabilir veya önemli bir ilişki göstermeyebilir. Sonuçlarımız ayrıca SNP rs11536889 ile yaş grupları ve ikametgah arasında anlamlı olmayan bir ilişki olduğunu göstermiştir ($P < 0,05$). TLR-4 gen polimorfizmleri İYE'lere yatkınlıkla ilişkili olabilir, ancak bu ilişki popülasyonlar ve hastalık türleri arasında farklılık gösterebilir.

Araştırılan rs11536889 SNP bağlamında *E. coli* üremesinin diğer bakteriyel enfeksiyonlara göre daha yaygın olduğunu gözlemlenmiştir. Bakteriyel enfeksiyonların, özellikle de *E. coli*'nin bu yaygınlığı, her iki SNP'nin tüm genetik formlarında tutarlı olmuştur. *E. coli*, kolon ve rektumda önemli bir varlığı olan insan gastrointestinal sisteminin doğal bir bakterisidir. İdrar yoluna olan bu yakınlık, *E. coli*'nin üriner sisteme girmesi ve enfekte etmesi için erişilebilir bir rota oluşturmakta ve onu sürekli olarak yakın mesafede bulunan bir bakteri haline getirmektedir (Mao *et al.* 2012). *E. coli*, idrar yolunu kaplayan ürotelyal hücrelere tutunmasını sağlayan fimbriae veya pili gibi spesifik yapışkan yapılar geliştirmiştir. Bu yapışma, enfeksiyonun oluşumunda çok önemli bir ilk adımı temsil eder ve *E. coli*'ye benzer şekilde etkili yapışma mekanizmalarından yoksun olabilecek diğer bakterilere göre bir avantaj sağlar (Govindarajan *et al.* 2020).

E. coli'nin dikkate değer bir diğer özelliği de koruyucu bir matrisle kaplanmış karmaşık bakteri toplulukları olan biyofilmler oluşturma kabiliyetinin yüksek olmasıdır. Bu

biyofilmler mesane veya üretral kaplamaya yapışarak bakteriler için güvenli bir sığınak oluşturabilir ve hem bağışıklık sisteminin hem de antibiyotiklerin enfeksiyonu temizlemesini zorlaştırabilir. Biyofilm oluşumu, belirli *E. coli* suşlarında gözlemlenen benzersiz bir stratejidir (Ballén *et al.* 2022). Çalışmamızda, daha önce İYE hastalarında araştırılmamış olan iki SNP'ye odaklanarak, İYE duyarlılığı ile ilişkili genetik faktörlerin araştırılması amaçlanmıştır. Bu farklı yaklaşım, bulgularımıza yeni bir boyut getirmekte ve İYE'lerin genetik temelini anlamamız açısından önemli sonuçlar doğurmaktadır. İYE bağlamında bu özel SNP üzerinde daha önce araştırma yapılmamış olması, çalışmamızı öncü bir çaba haline getirmiştir. Bu keşfedilmemiş bölgede, daha önce incelemiden kaçan potansiyel olarak çok önemli bir genetik faktörü ortaya çıkmıştır. Daha önce keşfedilmemiş bu genetik varyantın keşfi, İYE duyarlılığının altında yatan karmaşık genetik manzaranın daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına katkıda bulunduğundan, bulgularımız klinik uygulamaları ve araştırmaları anlamlı şekillerde etkileme potansiyeline sahip olduğundan kayda değer bir başarıdır. Daha önce karakterize edilmemiş bu genetik faktörü tanımlayarak, İYE hastaları için daha hedefli ve kesin teşhis ve müdahalelere fırsat sağlamaktadır. Bu yeni keşfedilen bilgi, hasta bakımının iyileştirilmesine ve ardından etkilenen bireyler üzerindeki İYE yükünün azaltılmasına yol açabilir. Bu çalışma, araştırmacılar ve sağlık hizmeti uygulayıcıları İYE duyarlılığının genetik belirleyicilerini araştırmaya devam ederken, mevcut literatürdeki kritik bir boşluğu ele alarak alana önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Bu çalışma, İYE'lerde rol oynayan genetik faktörlerin daha iyi anlaşılmasına yönelik önemli bir basamak görevi görmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamız sadece İYE'lerde daha önce araştırılmamış bir genetik faktöre ışık tutmakla kalmamış, aynı zamanda hastalık riskinde genetik çeşitliliğin önemini de vurgulamıştır. Bu bulgular, İYE'lerin genetik karmaşıklığını çözmeye yönelik devam eden arayışta önemli bir kilometre taşıını işaret etmektedir ve gelecekte daha etkili teşhis ve müdahalelerin önünü açabilir. İYE hastalarında rs7873784 polimorfizmine ilişkin literatürde eksiklikler olsa da araştırmamız bu boşluğu doldurma yolunda önemli bir adım atmaktadır. Bulgularımız, bu alandaki gelecekteki araştırma çabalarına ilham verebilir ve kolaylaştırabilir, sonuçta idrar yolu enfeksiyonları ve bunların genetik temelleri hakkındaki anlayışımızı ilerletebilir.

4.12 Yerel İYE Gram Pozitif Bakteri İzolatında (*Staphylococcus aureus*) Antibiyotik Direnç Genlerinin DNA Dizi Analizi

Yerel İYE gram pozitif bakteri izolatında (*Staphylococcus aureus*) ve NCBI-Genbank ile ilişkili suşlarda çoklu ilaç direnci (*mecA*, *ermA* ve *ermC*) genleri için genetik varyasyonun (Varyant tipleme) belirlenmesi amacıyla DNA dizileme yöntemi uygulanmış ve filogenetik ağaç (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. Metisilin direnci *mecA* için yerel *Staphylococcus aureus* IQ izolatının NCBI-BLAST *Staphylococcus aureus* suş 65 (KX139524.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,00150-0,00050) kapalı ilişkili olduğu göstermiştir. Eritromisin direnç proteini alt birimi A (*ermA*) geni için yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatının NCBI-BLAST *Staphylococcus aureus* suşu sa16 (KT803896.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,02-0,01) kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir. Eritromisin direnç proteini alt birimi C (*ermC*) için yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatı, Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19'da gösterildiği gibi toplam genetik değişikliklerde (% 0,01) NCBI-BLAST *Staphylococcus aureus* suşu 2006-10 (JF968530.1) ile kapalı ilişkili gösterilmiştir. *Staphylococcus aureus* çoklu ilaç direnci geni (*mecA*, *ermA* ve *ermC*) genleri ile NCBI-Genbank ilişkili suşlar arasındaki homoloji dizisi özdeşliği (*mecA*, *ermA* ve *ermC*) için homoloji dizisi özdeşliği Çizelge 4.17'de gösterildiği gibi sırasıyla (%99,65), (%99,80) ve (%99,75) arasında değişmektedir.

DNA Sequences		Translated Protein Sequences	
Species/Abbrev	Δ	*	*
1. KC243783.1 Staphylococcus aureus strain TN/CN/1/12		AGG	AATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAAATTTAA
2. KM505038.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/2/14		AGG	AATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAAATTTAA
3. KM505044.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/8/14		AGG	AATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAAATTTAA
4. KX139523.1 Staphylococcus aureus strain 42		AGG	AATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAAATTTAA
5. KX139524.1 Staphylococcus aureus strain 65		AGG	AATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAAATTTAA
6. KX139525.1 Staphylococcus aureus strain 265		AGG	AATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAAATTTAA
7. Staphylococcus aureus IQSA isolate (mecA) gene		AGG	AATGCAGAAAGACCAAAGCATACATATTGAAAAATTTAA

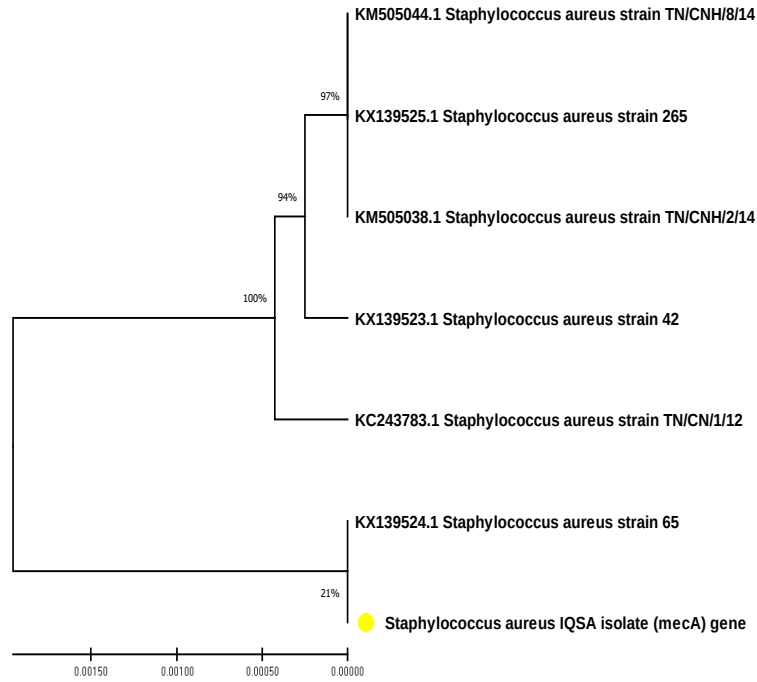
Species/Abbrev	Δ	*	*
1. KC243783.1 Staphylococcus aureus strain TN/CN/1/12		ATC	AGAACGTGGTAAAAATTTTAGACCGAAACAATGTGGAAATT
2. KM505038.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/2/14		ATC	AGAACGTGGTAAAAATTTTAGACCGAAACAATGTGGAAATT
3. KM505044.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/8/14		ATC	AGAACGTGGTAAAAATTTTAGACCGAAACAATGTGGAAATT
4. KX139523.1 Staphylococcus aureus strain 42		ATC	AGAACGTGGTAAAAATTTTAGACCGAAACAATGTGGAAATT
5. KX139524.1 Staphylococcus aureus strain 65		ATC	AGAACGTGGTAAAAATTTTAGACCGAAACAATGTGGAAATT
6. KX139525.1 Staphylococcus aureus strain 265		ATC	AGAACGTGGTAAAAATTTTAGACCGAAACAATGTGGAAATT
7. Staphylococcus aureus IQSA isolate (mecA) gene		ATC	AGAACGTGGTAAAAATTTTAGACCGAAACAATGTGGAAATT

Species/Abbrev	Δ	*	*
1. KC243783.1 Staphylococcus aureus strain TN/CN/1/12		GCC	AATACAGGAACAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAG
2. KM505038.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/2/14		GCC	AATACAGGAACAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAG
3. KM505044.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/8/14		GCC	AATACAGGAACAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAG
4. KX139523.1 Staphylococcus aureus strain 42		GCC	AATACAGGAACAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAG
5. KX139524.1 Staphylococcus aureus strain 65		GCC	AATACAGGAACAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAG
6. KX139525.1 Staphylococcus aureus strain 265		GCC	AATACAGGAACAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAG
7. Staphylococcus aureus IQSA isolate (mecA) gene		GCC	AATACAGGAACAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAG

Species/Abbrev	Δ	*	*
1. KC243783.1 Staphylococcus aureus strain TN/CN/1/12		TAA	CATATCCTCTAGAAAAAGCGACTTCACATCTATTAGGTTA
2. KM505038.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/2/14		TAA	CATATCCTCTAGAAAAAGCGACTTCACATCTATTAGGTTA
3. KM505044.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/8/14		TAA	CATATCCTCTAGAAAAAGCGACTTCACATCTATTAGGTTA
4. KX139523.1 Staphylococcus aureus strain 42		TAA	CATATCCTCTAGAAAAAGCGACTTCACATCTATTAGGTTA
5. KX139524.1 Staphylococcus aureus strain 65		TAA	CATATCCTCTAGAAAAAGCGACTTCACATCTATTAGGTTA
6. KX139525.1 Staphylococcus aureus strain 265		TAA	CATATCCTCTAGAAAAAGCGACTTCACATCTATTAGGTTA
7. Staphylococcus aureus IQSA isolate (mecA) gene		TAA	CATATCCTCTAGAAAAAGCGACTTCACATCTATTAGGTTA

Species/Abbrev	Δ	*	*
1. KC243783.1 Staphylococcus aureus strain TN/CN/1/12		ATT	AAAAACAAAAAGAAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTT
2. KM505038.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/2/14		ATT	AAAAACAAAAAGAAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTT
3. KM505044.1 Staphylococcus aureus strain TN/CNH/8/14		ATT	AAAAACAAAAAGAAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTT
4. KX139523.1 Staphylococcus aureus strain 42		ATT	AAAAACAAAAAGAAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTT
5. KX139524.1 Staphylococcus aureus strain 65		ATT	AAAAACAAAAAGAAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTT
6. KX139525.1 Staphylococcus aureus strain 265		ATT	AAAAACAAAAAGAAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTT
7. Staphylococcus aureus IQSA isolate (mecA) gene		ATT	AAAAACAAAAAGAAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTT

Şekil 4.14 Yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatu ve NCBI-Genbank *Staphylococcus aureus* Metisiline dirençli *mecA* ile ilişkili izolatlarda Metisiline dirençli *mecA* geninin çoklu dizi hizalama analizi



Şekil 4.15 Genetik analiz için kullanılan yerel *Staphylococcus aureus* suşu IQ izolatında Metisiline dirençli *mecA* geni kısmi sekansına dayalı filogenetik ağaç analizi

Filogenetik ağaç (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *Staphylococcus aureus* IQ izolatının NCBI-BLAST *Staphylococcus aureus* suş 65 (KX139524.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,00150-0,00050) kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir.

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrev	* * * * *
1. Staphylococcus aureus IQSA isolate (ermA) gene	C T A G T C A A A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A
2. KT803896.1 strain sa16	C T A G T C A A A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A
3. MG778116.1 strain 13	C T A G T C A A A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A
4. MG778115.1 strain 11	C T A G T C A A A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A
5. KX638975.1 strain SQ10	C T A G T C A A A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A
6. KX638973.1 strain SQ8	C T A G T C A A A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A
7. KX638972.1 strain SQ2	C T A G T C C C A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A
8. KX638941.1 strain Cd1	C T A G T C A A A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A
9. KX638940.1 strain Cd4	C T A G T C A A A A T G A G T C G A T C A G T T A C T G C T A T A G A A A T T G A

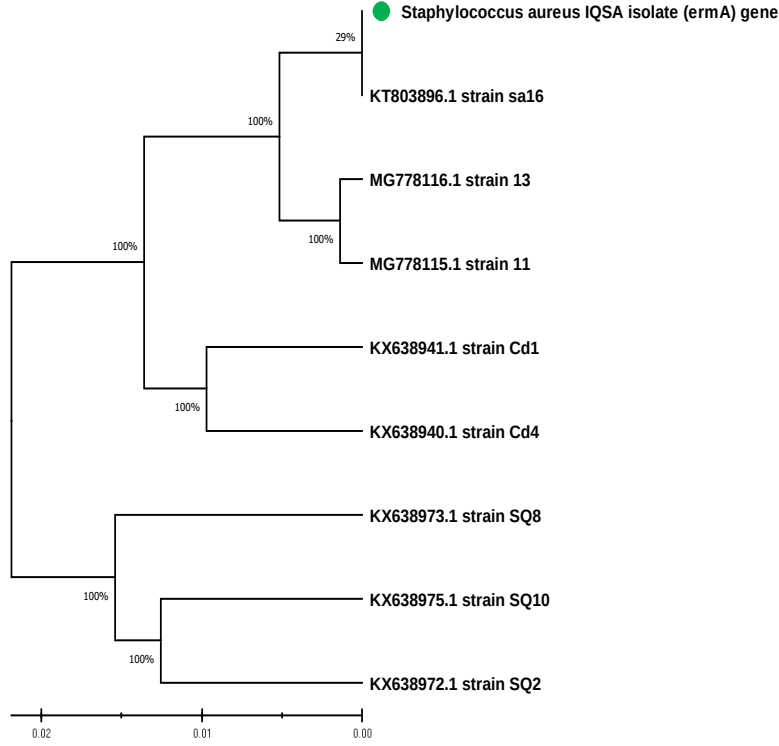
Species/Abbrev	* * * * *
1. Staphylococcus aureus IQSA isolate (ermA) gene	G C T T A T G T C A A G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T
2. KT803896.1 strain sa16	G C T T A T G T C A A G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T
3. MG778116.1 strain 13	G C T T A T G T C A A G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T
4. MG778115.1 strain 11	G C T T A T G T C A A G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T
5. KX638975.1 strain SQ10	G C T T A T G T C A A G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T
6. KX638973.1 strain SQ8	G C T T A T G T C C C G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T
7. KX638972.1 strain SQ2	G C T T A T G T C A A G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T
8. KX638941.1 strain Cd1	G C T T A T G T C A A G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T
9. KX638940.1 strain Cd4	G C T T A T G T C A A G T G A C T A A A G A A G C G G T A A A C C C C T C T G A G A A T

Species/Abbrev	* * * * *
1. Staphylococcus aureus IQSA isolate (ermA) gene	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A A A A T T T T
2. KT803896.1 strain sa16	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A A A A T T T T
3. MG778116.1 strain 13	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A A A A T T T T
4. MG778115.1 strain 11	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A A A A T T T T
5. KX638975.1 strain SQ10	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A A C C T C C T
6. KX638973.1 strain SQ8	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A A C C T T T T
7. KX638972.1 strain SQ2	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A A C C T T T T
8. KX638941.1 strain Cd1	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A C C A T C C T
9. KX638940.1 strain Cd4	G A A T A T A A A A G T G A T T C A A A C G G A T A T T C T A C C A T C C T

Species/Abbrev	* * * * *
1. Staphylococcus aureus IQSA isolate (ermA) gene	C T T C C C A A A A C A T A T A A A C T A T A A G A T A T A T G G T A A T A T T C C
2. KT803896.1 strain sa16	C T T C C C A A A A C A T A T A A A C T A T A A G A T A T A T G G T A A T A T T C C
3. MG778116.1 strain 13	C T T C C C A A A A C A T A T A A A C T A T A A G A T A T A T G G T A A T A T T C C
4. MG778115.1 strain 11	C T T C C C A A A A C A T A T A A A C T A T A A G A T A T A T G G T A A T A T T C C
5. KX638975.1 strain SQ10	C T T C C C A A C C C A T A T A C C T A T A A G A T A T A T G G T A A C C T T C C
6. KX638973.1 strain SQ8	C C C C C A A A A C A T A T A A A C T A T A A G A T A T A T G G T A A C C T T C C
7. KX638972.1 strain SQ2	C T T C C C A A A A C A T A T A A A C T A T A A G A T A T A T G G T A A C C T T C C
8. KX638941.1 strain Cd1	C T T C C C A A A A C A T A T A A A C T A T A A G A T A T A T G G T A A T A T T C C
9. KX638940.1 strain Cd4	C T T C C C A A A A C A T A T A A A C T A T A A G A T A T A T G G T A A T A T T C C

Şekil 4.16 Yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatu ve NCBI-Genbank *Staphylococcus aureus* Metisiline dirençli *mecA* ile ilişkili izolatlarda eritromisin direnç proteini alt birimi A (*ermA*) geninin çoklu dizi hizalama analizi

Çoklu hizalama analizi (ClustalW hizalama aracı, Çevrimiçi) kullanılarak yapılmıştır. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında *ermA* genindeki nükleotid hizalama benzerliğini (*) ve süstitüsyon mutasyonlarını göstermiştir.



Şekil 4.17 Genetik analiz için kullanılan yerel *Staphylococcus aureus* suşu IQ izolatında eritromisin direnç proteini alt ünite A (*ermA*) gen kısmi dizisine dayalı filogenetik ağaç analizi

Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatının NCBI-BLAST *Staphylococcus aureus* suş sa16 (KT803896.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,02-0,01) kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir.

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrv	* * * * *
1. Staphylococcus aureus IQSA isolate ermC gene	G T A A T T T C G T A A C T G C T A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A G
2. JF968533.1 strain 65-5	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
3. JF968532.1 strain 7504026-1	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
4. JF968530.1 strain 2006-10-584-1	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
5. JF968526.1 strain 7411141-1	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
6. JF968513.1 strain 741327-1	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
7. JF968525.1 strain 71-1	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
8. JF968509.1 strain 7414035-2	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
9. JF968507.1 strain 66-1	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
10. JF968510.1 strain 7312429-1	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
11. JF968512.1 strain 7311242-1	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A
12. JF968511.1 strain 2006-40-995	G T A A T T T C G T A A C T G C C A T T G A A A T A G A C C A T A A A T T A T G C A A A

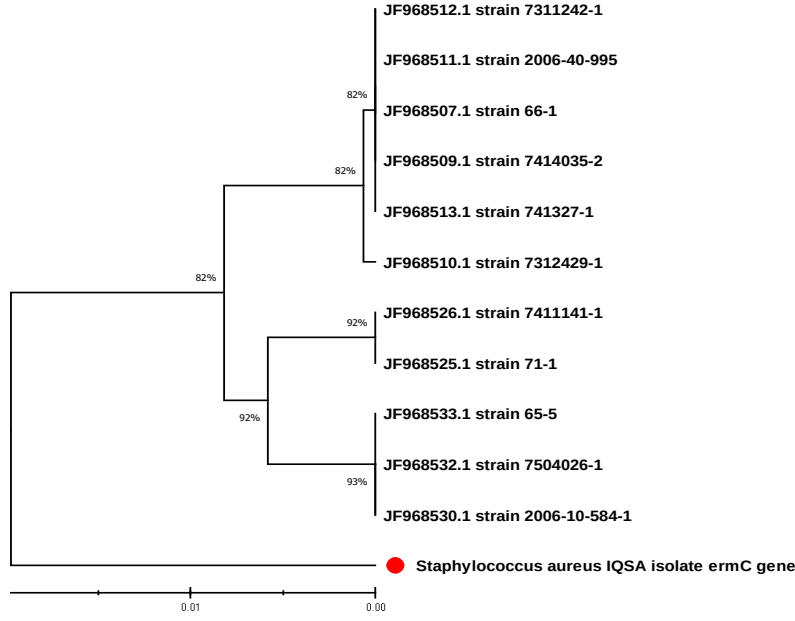
Species/Abbrv	* * * * *
1. Staphylococcus aureus IQSA isolate ermC gene	A G A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T A A T C A C G A T A A T T T T C A A G T T T
2. JF968533.1 strain 65-5	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
3. JF968532.1 strain 7504026-1	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
4. JF968530.1 strain 2006-10-584-1	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
5. JF968526.1 strain 7411141-1	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
6. JF968513.1 strain 741327-1	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
7. JF968525.1 strain 71-1	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
8. JF968509.1 strain 7414035-2	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
9. JF968507.1 strain 66-1	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
10. JF968510.1 strain 7312429-1	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
11. JF968512.1 strain 7311242-1	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T
12. JF968511.1 strain 2006-40-995	A A A C T A C A G A A A A T A A A C T T G T T G A T C A C G A T A A T T T C C A A G T T T

Species/Abbrv	* * * * *
1. Staphylococcus aureus IQSA isolate ermC gene	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
2. JF968533.1 strain 65-5	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
3. JF968532.1 strain 7504026-1	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
4. JF968530.1 strain 2006-10-584-1	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
5. JF968526.1 strain 7411141-1	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
6. JF968513.1 strain 741327-1	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
7. JF968525.1 strain 71-1	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
8. JF968509.1 strain 7414035-2	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
9. JF968507.1 strain 66-1	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
10. JF968510.1 strain 7312429-1	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
11. JF968512.1 strain 7311242-1	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C
12. JF968511.1 strain 2006-40-995	A A A C A A G G A T A T A T T G C A G T T T A A A T T T C C T A A A A A C C A A T C C

Species/Abbrv	* * * * *
1. Staphylococcus aureus IQSA isolate ermC gene	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A G T A T A C C T T A C A A C A T A A G T A C G G A T
2. JF968533.1 strain 65-5	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
3. JF968532.1 strain 7504026-1	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
4. JF968530.1 strain 2006-10-584-1	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
5. JF968526.1 strain 7411141-1	T C C T A T A A A A T A T A T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
6. JF968513.1 strain 741327-1	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
7. JF968525.1 strain 71-1	T C C T A T A A A A T A T A T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
8. JF968509.1 strain 7414035-2	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
9. JF968507.1 strain 66-1	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
10. JF968510.1 strain 7312429-1	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
11. JF968512.1 strain 7311242-1	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T
12. JF968511.1 strain 2006-40-995	T C C T A T A A A A T A T T T G G T A A T A T A C C T T A T A A C A T A A G T A C G G A T

Şekil 4.18 Yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatu ve NCBI-Genbank *Staphylococcus aureus* Metisiline dirençli *mecA* ile ilişkili izolatlarda eritromisin direnç proteini alt birimi C (*ermC*) geninin çoklu dizi hizalama analizi

Çoklu hizalama analizi (ClustalW hizalama aracı, Çevrimiçi) kullanılarak yapılmıştır. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında *ermC* genindeki nükleotid hizalama benzerliğini (*) ve sübstitüsyon mutasyonlarını göstermiştir.



Şekil 4.19 Genetik analiz için kullanılan yerel *Staphylococcus aureus* suşu IQ izolatında eritromisin direnç proteinini alt ünite C (*ermC*) gen kısmi sekansına dayalı filogenetik ağaç analizi

Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatı, NCBI-BLAST *Staphylococcus aureus* suş 2006-10 (JF968530.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,01) kapalı ilişkili gösterilmiştir.

Çizelge 4.17 Yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatı için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi

Yerel izolat	Hedef gen	Erişim numarası	Homoloji dizisi özdeşliği (%)		
			Özdeş suş	Erişim numarası	Kimlik (%)
<i>Staphylococcus aureus</i> IQSA	<i>mecA</i>	OQ866311	<i>Staphylococcus aureus</i> 65	KX139524.1	99,565
<i>Staphylococcus aureus</i> IQSA	<i>ermA</i>	OQ866312	<i>Staphylococcus aureus</i> 16	KT803896.1	%99,80
<i>Staphylococcus aureus</i> IQSA	<i>ermC</i>	OQ866313	<i>Staphylococcus aureus</i> 2006-10-584-1	JF968530.1	%99,75

4.13 Yerel İYE Gram Negatif Bakteri İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin DNA Sekans Analizi

Yerel İYE gram negatif bakteri izolatlarında ve NCBI-Genbank ile ilişkili suşlarda Genişletilmiş beta laktamaz (blaCTXM, blaSHV, blaTEM ve blaAMPC) genleri için genetik varyasyonun (Varyant tiplleme) tanımlanması için DNA dizileme yöntemi gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *Escherichia coli* IQEC izolatları NCBI-BLAST blaCTX-M-1 (AY847148.1) ile kapalı ilişkili, yerel *Proteus mirabilis* IQPM izolatı NCBI-BLAST blaCTX-M-15 (KU926353.1) ve yerel *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatı toplam genetik değişikliklerde (%0,150-0,050) NCBI-BLAST blaCTX-M-55 (KU306845.1) ile kapalı ilişki göstermiştir. *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatları sırasıyla NCBI-BLAST beta-laktamaz (blaSHV-1) geniyle (MG989270.1) toplam genetik değişikliklerde (%0,0030-0,00050) kapalı ilişki göstermiştir.

Yerel *Escherichia coli* IQEC ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatları NCBI-BLAST blaTEM-201 (JX310327.1) ile kapalı ilişki gösterirken, yerel *Proteus mirabilis* IQPM izolatı NCBI-BLAST blaTEM-1 (MG653121.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,0040-0,0010) kapalı ilişki göstermiştir. Yerel *Escherichia coli* IQEC ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatları NCBI-BLAST blaAMPC-CMY-2 (OP937254.1) ile kapalı ilişki gösterirken yerel *Proteus mirabilis* IQPM izolatı NCBI-BLAST blaAMPC-CMY-24 (NG_048819.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,00150-0) Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26 ve Şekil 4.27'de gösterildiği gibi genişletilmiş beta laktamaz (blaCTXM, blaSHV, blaTEM ve blaAMPC) genleri ile NCBI-Genbank ilişkili suşlar arasındaki homoloji dizisi özdeşliği, Çizelge 4.18, Çizelge 4.19, Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.21'de gösterildiği gibi (blaCTXM, blaSHV, blaTEM ve blaAMPC) için homoloji dizisi özdeşliği sırasıyla (%99,45-99,65), (%99,80-99,85), (%99,60-99,75) ve (%99,480-99,90) arasında değişmektedir.

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrv	Δ
1. Escherichia coli IQEC isolate CTX-M	T A A C G T G G C G A T G A A T A A G C T G A T T G C T C A C G T T G G C G G C C C G G
2. Proteus mirabilis IQPM isolate CTX-M	T A A C G T G G C G A T G A A T A A G C T G A T T G C T C A C G T T G G C G G C C C G G
3. klebsiella pneumoniae IQKP isolate CTX-M	T A A C G T G G C G A T G A A T A A G C T G A T T G C T C A C G T T G G C G G C C C G G
4. AY847148.1 (blaCTX-M-1) gene complete cds	T A A C G T G G C G A T G A A T A A G C T G A T T G C T C A C G T T G G C G G C C C G G
5. NG_049047.1 (CTX-M-93)	C A A T A C C G C C A T G A A C A A A T T G A T T G C C C A G C T C G G T G G C C C G G
6. KU306845.1 (CTX-M-55)	T A A C G T G G C G A T G A A T A A G C T G A T T G C T C A C G T T G G C G G C C C G G
7. NG_048898.1 (CTX-M-10)	T A A C G T G G C G A T G A A T A A G C T G A T T G C T C A C G T T G G C G G C C C G G
8. MT156337.1 (blaCTX-M-234)	C A A T A C C G C C A T G A A C A A A T T G A T T G C C C A G C T C G G T G G C C C G G
9. KU926353.1 (blaCTX-M-15)	T A A C G T G G C G A T G A A T A A G C T G A T T G C T C A C G T T G G C G G C C C G G

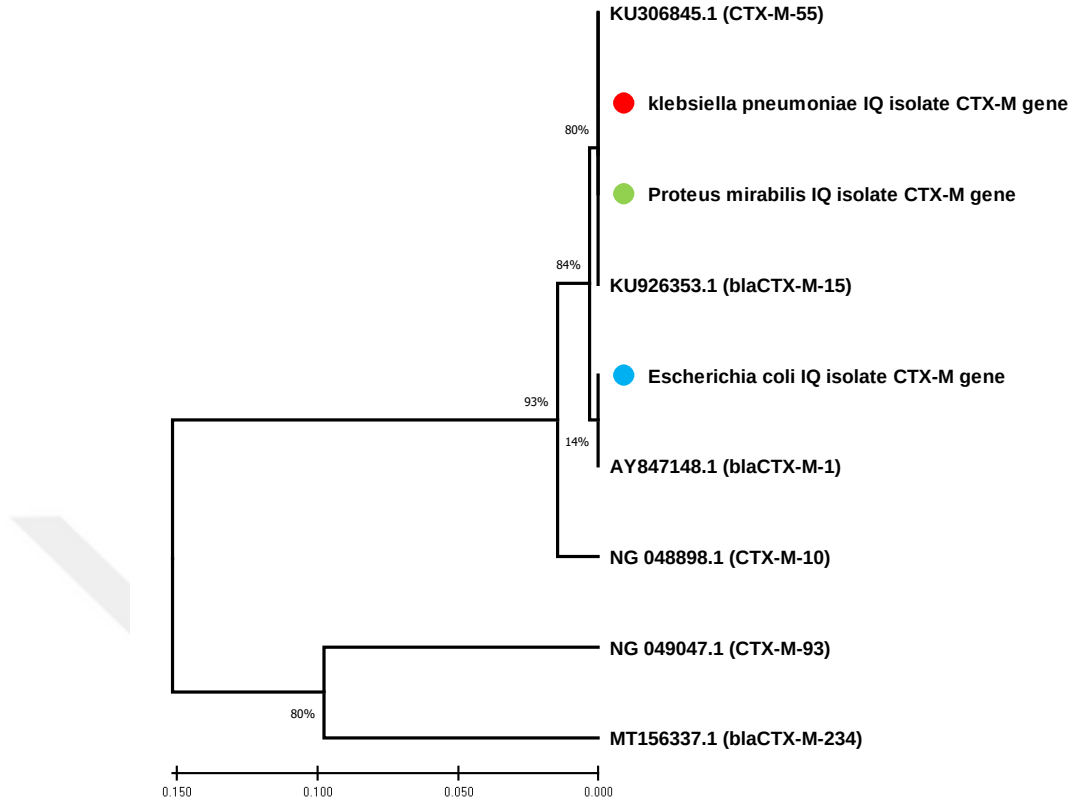
Species/Abbrv	Δ
1. Escherichia coli IQEC isolate CTX-M	C T A G C G T C A C C G C G T T C G C C C G A C A G C T G G G A G A C G A A A C G T T C C
2. Proteus mirabilis IQPM isolate CTX-M	C T A G C G T C A C C G C G T T C G C C C G A C A G C T G G G A G A C G A A A C G T T C C
3. klebsiella pneumoniae IQKP isolate CTX-M	C T A G C G T C A C C G C G T T C G C C C G A C A G C T G G G A G A C G A A A C G T T C C
4. AY847148.1 (blaCTX-M-1) gene complete cds	C T A G C G T C A C C G C G T T C G C C C G A C A G C T G G G A G A C G A A A C G T T C C
5. NG_049047.1 (CTX-M-93)	G A G G C G T G A C G G C T T T T G C C C G C G C G A T C G G C G A T G A G A C G T T T C
6. KU306845.1 (CTX-M-55)	C T A G C G T C A C C G C G T T C G C C C G A C A G C T G G G A G A C G A A A C G T T C C
7. NG_048898.1 (CTX-M-10)	C T A G C G T T A C C G C G T T C G C C C G A C A G C T G G G A G A C G A A A C G T T C C
8. MT156337.1 (blaCTX-M-234)	G A G G C G T G A C G G C T T T T G C C C G C G C G A T C G G C G A T G A G A C G T T T C
9. KU926353.1 (blaCTX-M-15)	C T A G C G T C A C C G C G T T C G C C C G A C A G C T G G G A G A C G A A A C G T T C C

Species/Abbrv	Δ
1. Escherichia coli IQEC isolate CTX-M	G T C T C G A C G G T A C C G A G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G
2. Proteus mirabilis IQPM isolate CTX-M	G T C T C G A C G G T A C C G A G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G
3. klebsiella pneumoniae IQKP isolate CTX-M	G T C T C G A C G G T A C C G A G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G
4. AY847148.1 (blaCTX-M-1) gene complete cds	G T C T C G A C G G T A C C G A G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G
5. NG_049047.1 (CTX-M-93)	G T C T G G A T C G C A C T G A A C C T A C G C A G A A T A C C G C C A T T C C G G G C G
6. KU306845.1 (CTX-M-55)	G T C T C G A C G G T A C C G A G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G
7. NG_048898.1 (CTX-M-10)	G T C T C G A C G G T A C C G A G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G
8. MT156337.1 (blaCTX-M-234)	G T C T G G A T C G C A C T G A A C C T A C G C T G A A T A C C G C C A T T C C G G G C G
9. KU926353.1 (blaCTX-M-15)	G T C T C G A C G G T A C C G A G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G

Species/Abbrv	Δ
1. Escherichia coli IQEC isolate CTX-M	G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G A T C C G C G T G A T A C C A C
2. Proteus mirabilis IQPM isolate CTX-M	G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G A T C C G C G T G A T A C C A C
3. klebsiella pneumoniae IQKP isolate CTX-M	G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G A T C C G C G T G A T A C C A C
4. AY847148.1 (blaCTX-M-1) gene complete cds	G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G A T C C G C G T G A T A C C A C
5. NG_049047.1 (CTX-M-93)	A C C T A C G C A G A A T A C C G C C A T T C C G G G C G A C C C G A G A G A C A C C A C
6. KU306845.1 (CTX-M-55)	G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G A T C C G C G T G A T A C C A C
7. NG_048898.1 (CTX-M-10)	G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C T G G C G A T C C G C G T T C C T G G C G
8. MT156337.1 (blaCTX-M-234)	A C C T A C G C T G A A T A C C G C C A T T C C G G G C G A C C C G A G A G A C A C C A C
9. KU926353.1 (blaCTX-M-15)	G C C G A C G T T A A A C A C C G C C A T T C C G G G C G A T C C G C G T G A T A C C A C

Şekil 4.20 Yerel *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatlarında ve NCBI-Genbank blaCTX-M ile ilişkili izolatlarda A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaCTX-M) geninin çoklu dizi hizalama analizi

Çoklu hizalama analizi (ClustalW hizalama aracı. Çevrimiçi) kullanılarak yapılmıştır. Bu hizalama analizi, nükleotid hizalama benzerliğini (*) olarak ve izolatlar arasında blaCTX-M genindeki süstitüsyon mutasyonlarını göstermiştir.



Şekil 4.21 Genetik analiz için kullanılan yerel *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP'deki A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaCTX-M) gen kısmi dizisine dayalı filogenetik ağaç analizi

Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *Escherichia coli* IQEC izolatu NCBI-BLAST blaCTX-M-1 (AY847148.1) ile kapalı ilişkili, yerel *Proteus mirabilis* IQPM izolatu NCBI-BLAST blaCTX-M-15 (KU926353.1) ve yerel *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatu toplam genetik değişikliklerde (%0,150-0,050) NCBI-BLAST blaCTX-M-55 (KU306845.1) ile kapalı ilişki göstermiştir.

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrev	▽ *
1. <i>Proteus mirabilis</i> IQPM isolate (blaSHV) gene	A T G A T A G A A A T G G A T C T G G C C A G C G G C C G C A C G C T G A C C G C C T G G
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP isolate (blaSHV) g	A T G A T A G A A A T G G A T C T G G C C A G C G G C C G C A C G C T G A C C G C C T G G
3. <i>Escherichia coli</i> IQEC isolate (blaSHV) gene	A T G A T A G A A A T G G A T C T G G C C A G C G G C C G C A C G C T G A C C G C C T G G
4. NG_050104.1 (blaSHV-7)	A T G A T A G A A A T G G A T C T G G C C A G C G G C C G C A C G C T G A C C G C C T G G
5. NG_050061.1 (blaSHV-24)	A T G A T A G A A A T G G A T C T G G C C A G C G G C C G C A C G C T G A C C G C C T G G
6. NG_050024.1 (blaSHV-15)	A T G A T A G A A A T G G A T C T G G C C A G C G G C C G C A C G C T G A C C G C C T G G
7. MG989270.1 (blaSHV-1)	A T G A T A G A A A T G G A T C T G G C C A G C G G C C G C A C G C T G A C C G C C T G G
8. JX268632.1 (blaSHV-5)	A T G A T A G A A A T G G A T C T G G C C A G C G G C C G C A C G C T G A C C G C C T G G

Species/Abbrev	▽ *
1. <i>Proteus mirabilis</i> IQPM isolate (blaSHV) gene	C G C G C C G A T G A A C G C T T T C C C A T G A T G A G C A C C T T T A A A G T A G T G
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP isolate (blaSHV) g	C G C G C C G A T G A A C G C T T T C C C A T G A T G A G C A C C T T T A A A G T A G T G
3. <i>Escherichia coli</i> IQEC isolate (blaSHV) gene	C G C G C C G A T G A A C G C T T T C C C A T G A T G A G C A C C T T T A A A G T A G T G
4. NG_050104.1 (blaSHV-7)	C G C G C C G A T G A A C G C T T T C C C A T G A T G A G C A C C T T T A A A G T A G T G
5. NG_050061.1 (blaSHV-24)	C G C G C C G A T G A A C G C T T T C C C A T G A T G A G C A C C T T T A A A G T A G T G
6. NG_050024.1 (blaSHV-15)	C G C G C C G A T G A A C G C T T T C C C A T G A T G A G C A C C T T T A A A G T A G T G
7. MG989270.1 (blaSHV-1)	C G C G C C G A T G A A C G C T T T C C C A T G A T G A G C A C C T T T A A A G T A G T G
8. JX268632.1 (blaSHV-5)	C G C G C C G A T G A A C G C T T T C C C A T G A T G A G C A C C T T T A A A G T A G T G

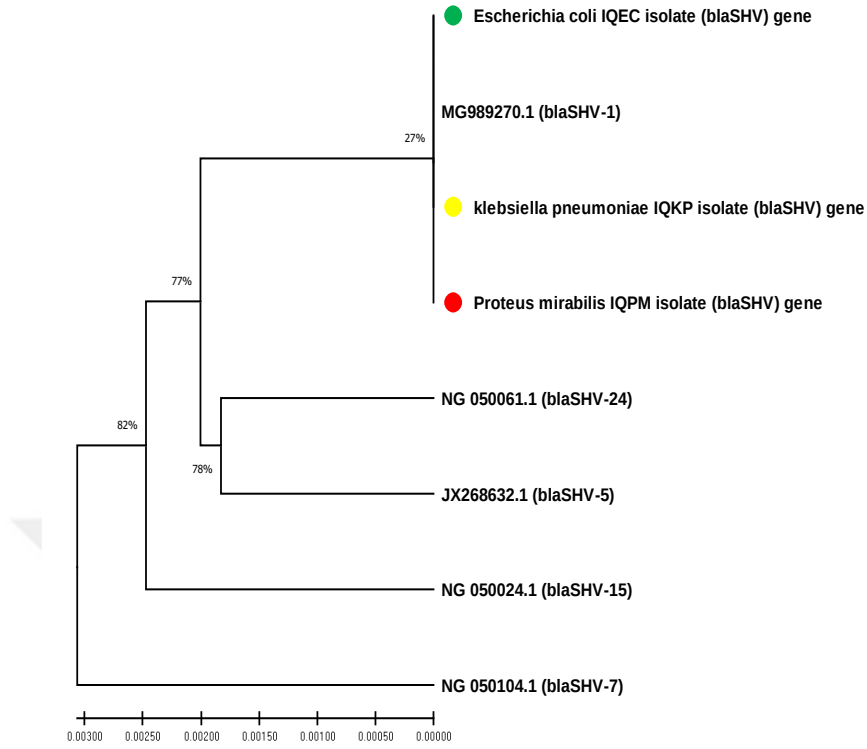
Species/Abbrev	▽ *
1. <i>Proteus mirabilis</i> IQPM isolate (blaSHV) gene	C T C T G C G G C G C A G T G C T G G C G C G G G T G G A T G C C G G T G A C A A C
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP isolate (blaSHV) g	C T C T G C G G C G C A G T G C T G G C G C G G G T G G A T G C C G G T G A C A A C
3. <i>Escherichia coli</i> IQEC isolate (blaSHV) gene	C T C T G C G G C G C A G T G C T G G C G C G G G T G G A T G C C G G T G A C A A C
4. NG_050104.1 (blaSHV-7)	C T C T G C G G C G C A G T G C T G G C G C G G G T G G A T G C C G G T G A C A A C
5. NG_050061.1 (blaSHV-24)	C T C T G C G G C G C A G T G C T G G C G C G G G T G G A T G C C G G T G A C A A C
6. NG_050024.1 (blaSHV-15)	C T C T G C G G C G C A A T G C T G G C G C G G G T G G A T G C C G G T G A C A A C
7. MG989270.1 (blaSHV-1)	C T C T G C G G C G C A G T G C T G G C G C G G G T G G A T G C C G G T G A C A A C
8. JX268632.1 (blaSHV-5)	C T C T G C G G C G C A G T G C T G G C G C G G G T G G A T G C C G G T G A C A A C

Species/Abbrev	▽ *
1. <i>Proteus mirabilis</i> IQPM isolate (blaSHV) gene	T C C A C T A T C G C C A G C A G G A T C T G G T G G A C T A C T C G C C G G T C A G
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP isolate (blaSHV) g	T C C A C T A T C G C C A G C A G G A T C T G G T G G A C T A C T C G C C G G T C A G
3. <i>Escherichia coli</i> IQEC isolate (blaSHV) gene	T C C A C T A T C G C C A G C A G G A T C T G G T G G A C T A C T C G C C G G T C A G
4. NG_050104.1 (blaSHV-7)	T C C A C T A T C G C C A G C A G G A T C T G G T G G A C T A C T C G C C G G T C A G
5. NG_050061.1 (blaSHV-24)	T C C A C T A T C G C C A G C A G G A T C T G G T G G A C T A C T C G C C G G T C A G
6. NG_050024.1 (blaSHV-15)	T C C A C T A T C G C C A G C A G G A T C T G G T G G A C T A C T C G C C G G T C A G
7. MG989270.1 (blaSHV-1)	T C C A C T A T C G C C A G C A G G A T C T G G T G G A C T A C T C G C C G G T C A G
8. JX268632.1 (blaSHV-5)	T C C A C T A T C G C C A G C A G G A T C T G G T G G A C T A C T C G C C G G T C A G

Species/Abbrev	▽ *
1. <i>Proteus mirabilis</i> IQPM isolate (blaSHV) gene	A C C A T G A G C G A T A A C A G C G C C G C C A A T C T G C T G C T G G C C A
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP isolate (blaSHV) g	A C C A T G A G C G A T A A C A G C G C C G C C A A T C T G C T G C T G G C C A
3. <i>Escherichia coli</i> IQEC isolate (blaSHV) gene	A C C A T G A G C G A T A A C A G C G C C G C C A A T C T G C T G C T G G C C A
4. NG_050104.1 (blaSHV-7)	A C C A T G A G C G A T A A C A G C G C C G C C A A T C T G C T G C T G G C C A
5. NG_050061.1 (blaSHV-24)	A C C A T G A G C G A T A A C A G C G C C G C C A A T C T G C T G C T G G C C A
6. NG_050024.1 (blaSHV-15)	A C C A T G A G C G A T A A C A G C G C C G C C A A T C T G C T G C T G G C C A
7. MG989270.1 (blaSHV-1)	A C C A T G A G C G A T A A C A G C G C C G C C A A T C T G C T G C T G G C C A
8. JX268632.1 (blaSHV-5)	A C C A T G A G C G A T A A C A G C G C C G C C A A T C T G C T A C T G G C C A

Şekil 4.22 Yerel *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP ve NCBI-Genbank blaSHV ile ilişkili izolatlarda A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaSHV) geninin çoklu dizi hizalama analizi

Çoklu hizalama analizi (ClustalW hizalama aracı, Çevrimiçi) kullanılarak yapılmıştır. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında blaSHV genindeki nükleotid hizalama benzerliğini (*) ve süstitüsyon mutasyonlarını göstermiştir.



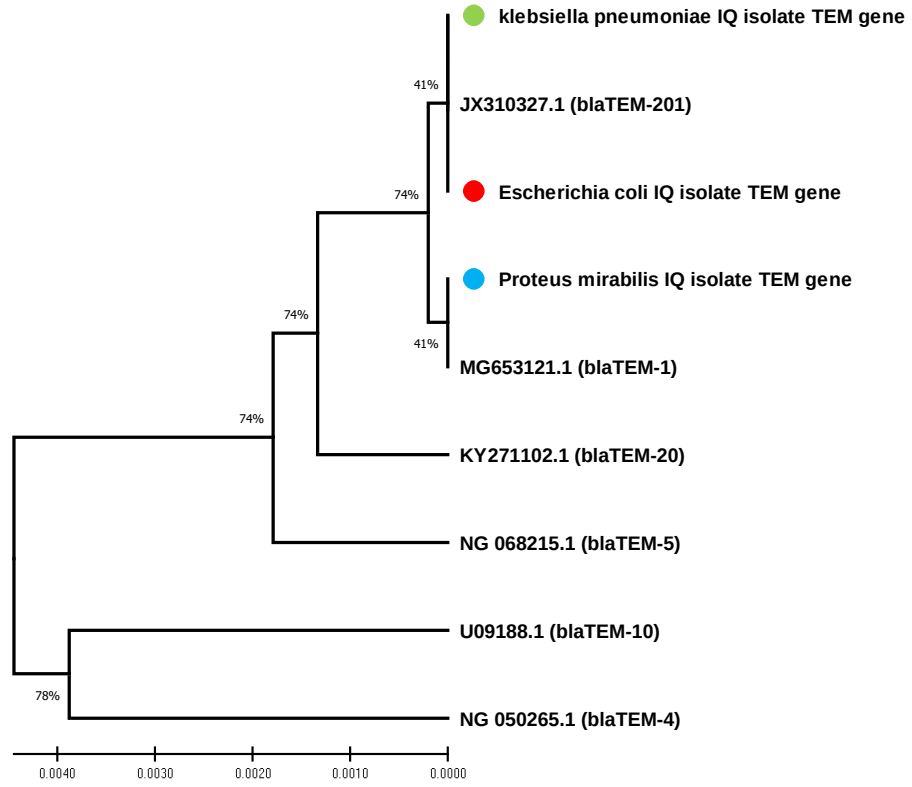
Şekil 4.23 Genetik analiz için kullanılan yerel *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatlarında A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaSHV) genine dayalı filogenetik ağaç analizi

Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatlarının sırasıyla NCBI-BLAST beta-laktamaz (blaSHV-1) geni (MG989270.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,0030-0,00050) kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir.

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrev	Δ
1. Escherichia coli IQEC isolate (blaTEM) gene	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
2. Proteus mirabilis IQPM isolate (blaTEM) gene	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
3. Klebsiella pneumoniae IQKP isolate (blaTEM) gene	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
4. JX310327.1 (blaTEM-201)	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
5. KY271102.1 (blaTEM-20)	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
6. MG653121.1 (blaTEM-1)	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
7. NG_050265.1 (blaTEM-4)	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
8. NG_068215.1 (blaTEM-5)	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
9. U09188.1 (blaTEM-10)	T T A A A G T T C T G C T A T G T G G T G C G G T A T T A T C C C G T G T T G A C G C C
Species/Abbrev	Δ
1. Escherichia coli IQEC isolate (blaTEM) gene	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
2. Proteus mirabilis IQPM isolate (blaTEM) gene	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
3. Klebsiella pneumoniae IQKP isolate (blaTEM) gene	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
4. JX310327.1 (blaTEM-201)	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
5. KY271102.1 (blaTEM-20)	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
6. MG653121.1 (blaTEM-1)	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
7. NG_050265.1 (blaTEM-4)	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
8. NG_068215.1 (blaTEM-5)	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
9. U09188.1 (blaTEM-10)	G G G C A A G A G C A A C T C G G T C G C C G C A T A C A C T A T T C T C A G A A T G A C
Species/Abbrev	Δ
1. Escherichia coli IQEC isolate (blaTEM) gene	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
2. Proteus mirabilis IQPM isolate (blaTEM) gene	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
3. Klebsiella pneumoniae IQKP isolate (blaTEM) gene	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
4. JX310327.1 (blaTEM-201)	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
5. KY271102.1 (blaTEM-20)	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
6. MG653121.1 (blaTEM-1)	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
7. NG_050265.1 (blaTEM-4)	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
8. NG_068215.1 (blaTEM-5)	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
9. U09188.1 (blaTEM-10)	T T G G T T A A G T A C T C A C C A G T C A C A G A A A A G C A T C T T A C G G A T G G
Species/Abbrev	Δ
1. Escherichia coli IQEC isolate (blaTEM) gene	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C G G C C A A C T T A C T T C T G A C
2. Proteus mirabilis IQPM isolate (blaTEM) gene	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C G G C C A A C T T A C T T C T G A C
3. Klebsiella pneumoniae IQKP isolate (blaTEM) gene	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C G G C C A A C T T A C T T C T G A C
4. JX310327.1 (blaTEM-201)	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C T G C C A A C T T A C T T C T G A C
5. KY271102.1 (blaTEM-20)	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C T G C C A A C T T A C T T C T G A C
6. MG653121.1 (blaTEM-1)	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C T G C C A A C T T A C T T C T G A C
7. NG_050265.1 (blaTEM-4)	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C G G C C A A C T T A C T T C T G A C
8. NG_068215.1 (blaTEM-5)	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C T G C C A A C T T A C T T C T G A C
9. U09188.1 (blaTEM-10)	C C A T A A C C A T G A G T G A T A A C A C T G C G G C C A A C T T A C T T C T G A C

Şekil 4.24 Yerel *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP ve NCBI-Genbank blaTEM ile ilişkili izolatlarda A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaTEM) geninin çoklu dizi hizalama analizi

Çoklu hizalama analizi (ClustalW hizalama aracı, Çevrimiçi) kullanılarak yapılmıştır. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında blaTEM genindeki nükleotid hizalama benzerliğini (*) ve süstitüsyon mutasyonlarını göstermiştir.



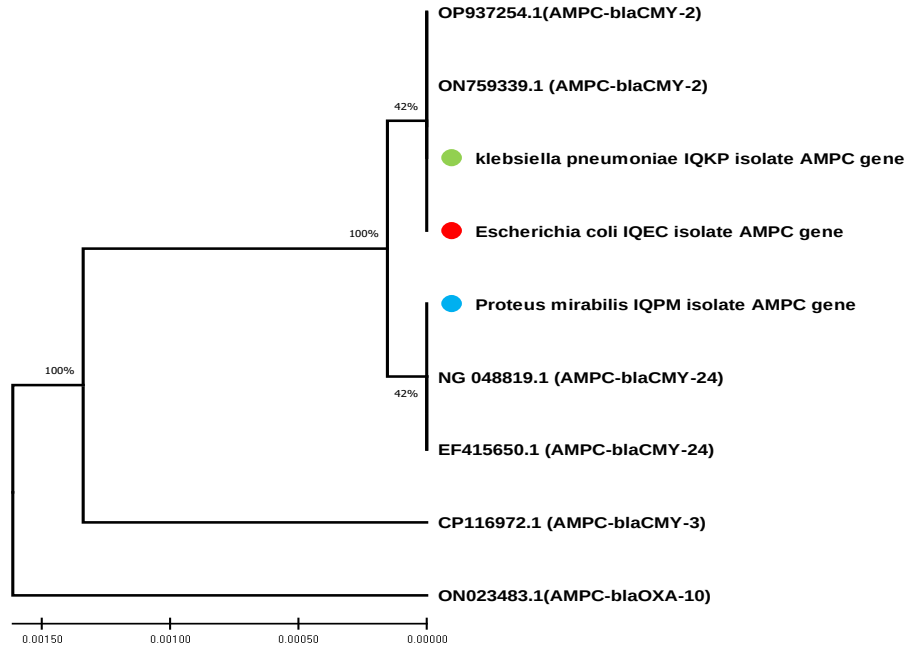
Şekil 4.25 Genetik analiz için kullanılan yerel *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatlarında A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaTEM) gen kısmi dizisine dayalı filogenetik ağaç analizi

Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *Escherichia coli* IQEC ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatlarının NCBI-BLAST blaTEM-201 (JX310327.1) ile kapalı ilişkili olduğu ve yerel *Proteus mirabilis* IQPM izolatının NCBI-BLAST blaTEM-1 (MG653121.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,0040-0,0010) kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir.

DNA Sequences	Translated Protein Sequences	
Species/Abbrv		* *
1. Escherichia coli IQEC isolate blaAMPC gene	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
2. Proteus mirabilis IQPM isolate blaAMPC gene	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
3. Klebsiella pneumoniae IQKP isolate blaAMPC gene	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
4. EF415650.1 (AMPC-blaCMY-24)	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
5. CP116972.1 (AMPC-blaCMY-3)	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
6. NG_048819.1 (AMPC-blaCMY-24)	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
7. ON023483.1 (AMPC-blaOXA-10)	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
8. ON759339.1 (AMPC-blaCMY-2)	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
9. OP937254.1 (AMPC-blaCMY-2)	CACGCAGCAAAACGCTGTTTGAGCTAGGATCGGTTAGTAAGAC	
Species/Abbrv		* *
1. Escherichia coli IQEC isolate blaAMPC gene	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
2. Proteus mirabilis IQPM isolate blaAMPC gene	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
3. Klebsiella pneumoniae IQKP isolate blaAMPC gene	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
4. EF415650.1 (AMPC-blaCMY-24)	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
5. CP116972.1 (AMPC-blaCMY-3)	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
6. NG_048819.1 (AMPC-blaCMY-24)	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
7. ON023483.1 (AMPC-blaOXA-10)	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
8. ON759339.1 (AMPC-blaCMY-2)	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
9. OP937254.1 (AMPC-blaCMY-2)	TAAACGGCGTGTGGGCGGCGATGCTATCGCCCGGGCGAAATT	
Species/Abbrv		* *
1. Escherichia coli IQEC isolate blaAMPC gene	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
2. Proteus mirabilis IQPM isolate blaAMPC gene	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
3. Klebsiella pneumoniae IQKP isolate blaAMPC gene	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
4. EF415650.1 (AMPC-blaCMY-24)	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
5. CP116972.1 (AMPC-blaCMY-3)	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
6. NG_048819.1 (AMPC-blaCMY-24)	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
7. ON023483.1 (AMPC-blaOXA-10)	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
8. ON759339.1 (AMPC-blaCMY-2)	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
9. OP937254.1 (AMPC-blaCMY-2)	GATCCGGTCAACGAAATAC TGGCCAGAACTGACAGGCAAAACAGTG	
Species/Abbrv		* *
1. Escherichia coli IQEC isolate blaAMPC gene	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	
2. Proteus mirabilis IQPM isolate blaAMPC gene	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	
3. Klebsiella pneumoniae IQKP isolate blaAMPC gene	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	
4. EF415650.1 (AMPC-blaCMY-24)	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	
5. CP116972.1 (AMPC-blaCMY-3)	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	
6. NG_048819.1 (AMPC-blaCMY-24)	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	
7. ON023483.1 (AMPC-blaOXA-10)	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	
8. ON759339.1 (AMPC-blaCMY-2)	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	
9. OP937254.1 (AMPC-blaCMY-2)	CAGACGCGTCC TGC AACCATT AAAACT TGGCGCATACCTGGATT	

Şekil 4.26 Yerel *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP ve NCBI-Genbank blaTEM ile ilişkili izolatlarda A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaTEM) geninin çoklu dizi hizalama analizi

Çoklu hizalama analizi (ClustalW hizalama aracı, Çevrimiçi) kullanılarak yapılmıştır. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında blaTEM genindeki nükleotid hizalama benzerliğini (*) ve süstitüsyon mutasyonlarını göstermiştir.



Şekil 4.27 Genetik analiz için kullanılan yerel *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP'deki A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaAMPC) gen kısmi dizisine dayalı filogenetik ağaç analizi

Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *Escherichia coli* IQEC ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatlarının NCBI-BLAST blaAMPC-CMY-2 (OP937254.1) ile kapalı ilişkili olduğu ve yerel *Proteus mirabilis* IQPM izolatının NCBI-BLAST blaAMPC-CMY-24 (NG_048819.1) ile toplam genetik değişikliklerde (%0,00150-0,00050) kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Çizelge 4.18 A Sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaCTX-M) geni için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi

Yerel izolat	Hedef gen	Erişim numarası	Homoloji dizisi özdeşliği (%)		
			Tanımlanan Allel	Erişim numarası	Kimlik (%)
<i>Escherichia coli</i> IQEC	blaCTX-M	OQ866299	blaCTX-M-1	AY847148.1	%99,60
<i>Proteus mirabilis</i> IQPM	blaCTX-M	OQ866300	blaCTX-M-15	KU926353.1	%99,45
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP	blaCTX-M	OQ866301	blaCTX-M-55	KU306845.1	%99,65

Çizelge 4.19 A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaSHV) geni için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi

Yerel izolat	Hedef gen	Erişim numarası	Homoloji dizisi özdeşliği (%)		
			Tanımlanan Allel	Erişim numarası	Kimlik (%)
<i>Escherichia coli</i> IQEC	blaSHV	OQ866302	blaSHV-1	MG989270.1	%99,85
<i>Proteus mirabilis</i> IQPM	blaSHV	OQ866303	blaSHV-1	MG989270.1	%99,85
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP	blaSHV	OQ866304	blaSHV-1	MG989270.1	%99,80

Çizelge 4.20 A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaTEM) geni için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi

Yerel izolat	Hedef gen	Erişim numarası	Homoloji dizisi özdeşliği (%)		
			Tanımlanan Allel	Erişim numarası	Kimlik (%)
<i>Escherichia coli</i> IQEC	blaTEM	OQ866305	blaTEM-201	JX310327.1	%99,65
<i>Proteus mirabilis</i> IQPM	blaTEM	OQ866306	blaTEM-1	MG653121.1	%99,75
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP	blaTEM	OQ866307	blaTEM-201	JX310327.1	%99,60

Çizelge 4.21 A sınıfı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (blaAMPC) geni için NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi

Yerel izolat	Hedef gen	Erişim numarası	Homoloji dizisi özdeşliği (%)		
			Tanımlanan Allel	Erişim numarası	Kimlik (%)
<i>Escherichia coli</i> IQEC	blaAMPC	OQ866308	blaAMPC-CMY-2	OP937254.1	%99,85
<i>Proteus mirabilis</i> IQPM	blaAMPC	OQ866309	blaAMPC-CMY-24	NG_048819.1	%99,80
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IQKP	blaAMPC	OQ866310	blaAMPC-CMY-2	OP937254.1	%99,90

Yeni nesil dizileme, tüm genomları karşılaştırmak ve antibiyotik dirençli genler içinde bulunan tek baz çifti varyasyonlarını analiz etmek için güçlü bir araçtır. Aynı bakteri türünün duyarlı suşuna kıyasla antibiyotik dirençli genler içindeki spesifik mutasyonları belirlenmiştir (Ramanathan *et al.* 2017). Yerel İYE gram pozitif bakteri izolatında (*Staphylococcus aureus*) ve NCBI-Genbank ile ilişkili suşlarda çoklu ilaç direnci geni (*mecA*, *ermA* ve *ermC*) genleri için genetik varyasyonun (Varyant tiplleme) tanımlanması için DNA dizileme yöntemi gerçekleştirilmiş ve filogenetik ağaç (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup yöntemi (UPGMA ağacı) kullanılarak oluşturulmuştur.

Metisilin direnci *mecA* için yerel *Staphylococcus aureus* IQ izolatının NCBI-BLAST *Staphylococcus aureus* suşu 65 ile kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca mevcut çalışma, eritromisin direnç proteini alt birimi C (*ermC*) için yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatının NCBI- BLAST *Staphylococcus aureus* suşu 2006-10 ve eritromisin direnç proteini alt birimi A (*ermA*) geni için yerel *Staphylococcus aureus* IQSA izolatının NCBI-BLAST *Staphylococcus aureus* suşu sa16 ile kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir. elde edilen sonuçlar Brezilya'da Dabul *et al.* (2013) tarafından yapılan çalışma ile uyumludur. *Staphylococcus aureus* suşu SA16'nın Brezilya'daki bir hastanede yaygın olduğunu bulmuşlardır.

Yerel İYE gram negatif bakteri izolatlarında ve NCBI-Genbank ilişkili suşlarda Genişletilmiş beta laktamaz (blaCTXM, blaSHV, blaTEM ve blaAMPC) genleri için genetik varyasyonun (Varyant tiplleme) belirlenmesi amacıyla DNA dizileme yöntemi uygulanmıştır. Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* dünya çapında bir dağılıma sahiptir. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* CTX-M-, TEM- ve SHV tipi ESBL üreten başlıca bakteri türleridir. Şimdiye kadar blaCTX-M, blaTEM ve blaSHV'nin 500'den fazla genetik varyasyonu bildirilmiştir (D'Andrea *et al.* 2013). Bu çalışmada *Escherichia coli* IQEC izolatlarının NCBI-BLAST blaCTX-M-1 (AY847148.1) ile kapalı ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Proteus mirabilis IQPM izolatı NCBI-BLAST blaCTX-M-15 (KU926353.1) ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatı NCBI-BLAST blaCTX-M-55 (KU306845.1) ile kapalı ilişki göstermiştir. Bu sonuç, *E. coli* bakterilerinde bla CTX M-1 genini bulan Verma *et al.* (2022) tarafından kuzey Hindistan'da yapılan çalışma ile uyumludur. İdrar yolu enfeksiyonlarından elde edilen tüm izolatların mevcut sonucu, *E. coli* bakterilerinde bla CTX M-1 genini (%21) bulan Gautam *et al.* (2019) tarafından Hindistan'da yapılan çalışma ile ve mevcut sonuç, *E. coli*'yi (%63,7) bulan Mohamudha Parveen *et al.* (2012) tarafından güney Hindistan'da yapılan çalışma ile uyumludur. 124 pozitif klinik izolat CTX-M grubuna özgü primerlerle test edildiğinde, hepsi CTX-M-1 grubu için pozitif çıkmıştır. Mevcut sonuç, *P. mirabilis*'teki CTX-M-15'in izolatlarda bulunan en yaygın GSBL türü olduğunu bulan Mahrouki *et al.* (2012) tarafından Tunus hastanelerinde yapılan bir çalışma ile uyumludur. Ayrıca mevcut sonuç, *K. pneumoniae*'da CTX-M-55

bulan Cao *et al.* (2021) tarafından Çin'de yapılan çalışma ile uyumludur. Sekans analizi sonuçları, suşun üç plazmid içerdiğini ve blaCTX-M-55'in farklı plazmidlerde bulunduğunu göstermiştir. *Escherichia coli* IQEC, *Proteus mirabilis* IQPM ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatlarının NCBI-BLAST beta-laktamaz (blaSHV-1) ile kapalı ilişkili olduğu gösterilirken, sonuç Nakama *et al.* (2016) tarafından Haziran 2013 ve Temmuz 2014 tarihleri arasında Japonya'daki Okinawa Prefectural Hastanesi'nden toplanan 114 GSBL üreten *Enterobacteriaceae* klinik izolatu arasında blaSHV-1 tespit edilen Japonya'daki çalışma ile uyumludur.

Yerel *Escherichia coli* IQEC ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatları NCBI-BLAST blaTEM-201 ile kapalı ilişki gösterirken ve yerel *Proteus mirabilis* IQPM izolatu NCBI-BLAST blaTEM-1 ile kapalı ilişki gösterirken, mevcut sonuç, *Proteus mirabilis*'te blaTEM-1'i bulan Jawad and Khowman (2017) tarafından Irak'ta yapılan çalışma ile uyumludur (% 56,25). Ayrıca mevcut sonuç yerel *Escherichia coli* IQEC ve *Klebsiella pneumoniae* IQKP izolatlarının NCBI-BLAST blaAMPC-CMY-2 ile kapalı ilişkili olduğunu ve yerel *Proteus mirabilis* IQPM izolatının NCBI-BLAST blaAMPC-CMY-24 ile kapalı ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu sonuç Merida-Vieyra *et al.* (2020) tarafından Meksika'daki üçüncü basamak bir hastanedeki pediatrik hastalardan *Escherichia coli* izolatlarında yapılan çalışma ile uyumludur. 18 izolatta tespit edilen beta-laktamaz tip MY'nin alel varyantları CMY-2 (n=14) ve CMY-42 (n=4) olup, Malezya'daki üçüncü basamak hastanede CMY-2 genlerini (%6,4) kaydeden Ho *et al.* (2012) tarafından yapılan çalışma ile uyumludur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, En sık izole edilen bakteri *Escherichia coli* olurken, bunu *Staphylococcus aureus*, *P. mirabilis* ve *Klebsiella pneumoniae* takip etmiştir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnci, antibiyotiklerin doktor kontrolü veya reçete olmadan kullanılması ve gerekli dozların tamamlanmaması sonucu oluşur.

TLR4-rs7873784 SNP'ye ilişkin genotiplerin ve alel frekanslarının hastalar ve sağlıklılar arasında kodominant mod açısından karşılaştırılmasında, hasta ve kontrol grupları arasında genotiplerin frekans dağılımında anlamlı farklılık vardır ($p=0,001$). Risk analizi, homozigot CC genotipinin anlamlı bir risk faktörü olduğunu ($OR=2,9$), ayrıca heterozigot G/C genotipinin 4,35'lik bir OR ile anlamlı bir risk faktörü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu, homozigot CC genotipine sahip hastaların yaklaşık üç kat risk altında olduğu anlamına gelmektedir. Diğer genotiplere sahip hastalarla karşılaştırıldığında hastalığı geliştirmeye daha yatkındır.

TLR4-rs11536889 SNP'ye ilişkin genotiplerin ve alel frekanslarının hastalar ve sağlıklı kontroller arasında kodominant mod açısından karşılaştırılmasında, hasta ve kontrol grupları arasında genotiplerin frekans dağılımında anlamlı farklılık vardır ($p=0,019$). Risk analizi, homozigot CC genotipinin önemli bir risk faktörü olduğunu ($OR=1,82$) ve heterozigot G/C genotipinin, OR 2,7 ile anlamlı olmayan bir risk faktörü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu, homozigot CC genotipine sahip hastaların yaklaşık iki hasta olduğu anlamına gelmektedir. Diğer genotiplere sahip hastalarla karşılaştırıldığında hastalığa yakalanma riski kat kat fazladır.

Tüm bu bilgiler doğrultusunda, bakterilerin antibiyotiğe direncini azaltmak için doktora danışmadan veya idrar kültürü yaptırmadan antibiyotik kullanılmaması, ayrıca antibiyotiğin tam dozunda kullanılması, DNA dizilimini saptamak için β -laktamazların gen ifadesinin saptanması ve karakterizasyonu için gerçek zamanlı PCR gibi daha ileri tekniklerin kullanılması, , Beta-laktamaz üreten bakteri türlerinin sürekli gözetimini sürdürmek için ek araştırmaların yapılması, idrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda ilişkili hedef alelleri doğrulamak için İnsan Lökosit Antijenleri (HLA) analizinin yapılması ve

hastalığın şiddetini etkileyebileceği için idrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda hücrel immün yanıtta olası değışikliklerin değlendirilmesi önerilmektedir. Ayrıca, TLR'ler yeni bir alandır ve kesin sonuçlara varmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. TLR'lerin temel süreçleri ve bunların patojenlerle olan ilişkileri hakkında daha fazla araştırma yapılmasını daha fazla bilginin ortaya çıkmasına var olan tahminlerin doğrulanmasına olanak sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- Abass, K., Adanu, S. K. and Agyemang, S. 2018. Peri-urbanisation and loss of arable land in Kumasi Metropolis in three decades: Evidence from remote sensing image analysis. *Land Use Policy*, 72(1): 470-479.
- Abbassi, M. S., Torres, C., Achour, W., Vinué, L., Sáenz, Y., Costa, D. and Hassen, A. B. 2008. Genetic characterisation of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains isolated from stem cell transplant patients in Tunisia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32(4): 308-314.
- Abdalhamid, B., Alunayan, S., Shaikh, A., Elhadi, N. and Aljindan, R. 2017. Prevalence study of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in Enterobacteriaceae lacking inducible amp C from Saudi hospitals. *Journal of Medical Microbiology*, 66(9): 1286-1290.
- Abondio, P., Cilli, E. and Luiselli, D. 2023. Human pangenomics: Promises and challenges of a distributed genomic reference. *Life*, 13(6): 1360-1365.
- Abraham, S. N. and Miao, Y. 2015. The nature of immune responses to urinary tract infections. *Nature Reviews Immunology*, 15(10): 655-663.
- Adamus-Białek, W., Baraniak, A., Wawszczak, M., Głuszek, S., Gad, B., Wróbel, K. and Parniewski, P. 2018. The genetic background of antibiotic resistance among clinical uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Molecular Biology Reports*, 45(1): 1055-1065.
- Agbugui, J. O., Obarisiagbon, E. O. and Osaigbovo, I. I. 2016. Bacteriology of urine specimens obtained from men with symptomatic benign prostatic hyperplasia. *Nigerian Journal of Surgery*, 22(2): 65-69.
- Ahmed, H., Davies, F., Francis, N., Farewell, D., Butler, C. and Paranjothy, S. 2017. Long-term antibiotics for prevention of recurrent urinary tract infection in older adults: Systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ Open*, 7(5): 152-233.
- Akgül, T. and Karakan, T. 2018. The Role of Probiotics in women with recurrent urinary tract infections. *Turkish journal of urology* 44(5): 23-45.
- Akira, S., Uematsu, S. and Takeuchi, O. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124(4): 783-801.

- Aktas, Z., Aridogan, A., Kayacan, C. B. and Aydin, D. 2007. Resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in staphylococci isolated in Istanbul, Turkey. *The Journal of Microbiology*, 45(4): 286-290.
- Akusobi, C., Benghomari, B. S., Zhu, J., Wolf, I. D., Singhvi, S., Dulberger, C. L. and Rubin, E. J. 2022. Transposon mutagenesis in *Mycobacterium abscessus* identifies an essential penicillin-binding protein involved in septal peptidoglycan synthesis and antibiotic sensitivity. *Elife*, 11(2): 71-94.
- Al-Badr, A. and Al-Shaikh, G. 2013. Recurrent urinary tract infections management in women: A review. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 13(3): 359-360.
- Al-Dmour, O., Al-Groom, R., Alsheikh, A., Mahmoud, S., Amawi, K., Yousef, I. and Almaraira, A. 2023. Genetic identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Nasal carriage and its antibiogram among Kidney Dialysis patients at a Tertiary Care Hospital in AL-Karak, Jordan. *International Journal of Microbiology*, 23(2): 3-7.
- Alghizzi, M. J., Alansari, M. and Shami, A. 2021. The prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in processed food samples in Riyadh, Saudi Arabia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(1)11-18.
- Al-Hashmay, D. S., Hassan Alibraheem, S. A. and Hussein, K. R. 2021. Molecular detection of *Escherichia coli* cause urinary tract infections among pregnant women at Thi-Qar province, Iraq. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 15(2): 1275.
- Al-Jamei, S. A., Albsoul, A. Y., Bakri, F. G. and Al-Bakri, A. G. 2019. Extended-spectrum β -lactamase producing *E. coli* in urinary tract infections: A two-center, cross-sectional study of prevalence, genotypes and risk factors in Amman, Jordan. *Journal of Infection and Public Health*, 12(1): 21-25.
- Al-Nakeeb, N. K., Radi, J., Hamdan, K. and Fouad, Z. 2018. Clinical and immunological effects of experimental infection with *Klebsiella pneumoniae* in lambs in Iraq. *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*, 17(1): 44-48.
- Al-Sheboul, S. A., Al-Madi, G. S., Brown, B. and Hayajneh, W. A. 2023. Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamases in Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Jordanian Hospitals. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 23(2): 1-11.

- Al-Wazni, W. S. and Hadi, B. S. 2015. Antivirulence effects of pomegranate peel extracts on most common urinary tract infection pathogens in pregnant women. *Journal of Contemporary Medical Sciences*, 1(4): 7-12.
- Alyethodi, R. R., Singh, U., Kumar, S., Alex, R., Sengar, G. S., Raja, T. V. .and Prakash, B. 2021. Designing, optimization, and validation of whole blood direct T-ARMS PCR for precise and rapid genotyping of complex vertebral malformation in cattle. *BMC Biotechnology*, 21(1): 36.
- Anger, J., Lee, U., Ackerman, A. L., Chou, R., Chughtai, B., Clemens, J. Q. and Chai, T. C. 2019. Recurrent uncomplicated urinary tract infections in women: AUA/CUA/SUFU guideline. *The Journal of Urology*, 202(2): 282-289.
- Arenz, S., Ramu, H., Gupta, P., Berninghausen, O., Beckmann, R., Vázquez-Laslop, N. and Wilson, D. N. 2014. Molecular basis for erythromycin-dependent ribosome stalling during translation of the ErmBL leader peptide. *Nature Communications*, 5(1): 3501.
- Argemi, X., Hansmann, Y., Prola, K. and Prévost, G. 2019. Coagulase-negative staphylococci pathogenomics. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5): 12-15.
- Armbruster, C. E., Mobley, H. L. and Pearson, M. M. 2018. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* infection. *EcoSal Plus*, 8(1): 2-13.
- Asmat, U., Mumtaz, M. Z. and Malik, A. 2021. Rising prevalence of multidrug-resistant uropathogenic bacteria from urinary tract infections in pregnant women. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 16(1): 102-111.
- Assimakopoulos, S. F., Kraniotis, P., Gogos, C. and Marangos, M. 2018. Renal vein thrombosis complicating severe acute pyelonephritis with renal abscesses and associated bacteraemia caused by extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*. *CEN Case Reports*, 7(1): 90-93.
- Aubertine, C. L., Rivera, M., Rohan, S. M. and Larone, D. H. 2006. Comparative study of the new colorimetric VITEK 2 yeast identification card versus the older fluorometric card and of CHROMagar Candida as a source medium with the new card. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(1): 227-228.

- Bader, M. S., Loeb, M. and Brooks, A. A. 2017. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgraduate Medicine*, 129(2): 242-258.
- Bahati, J., Stephen, B. M., Joseph, N., Asiphas, O., Musa, K. and Taseera, K. 2020. Prevalence and bacteriology of symptomatic urinary tract infection among pregnant women at Mbarara Regional Referral Hospital, South-western Uganda. *Research Square*, 21(2): 43-49.
- Bajaj, P., Singh, N. S. and Virdi, J. S. 2016. *Escherichia coli* β -lactamases: What really matters. *Frontiers in Microbiology*, 7(2): 417.
- Ballén, V., Cepas, V., Ratia, C., Gabasa, Y. and Soto, S. M. 2022. Clinical *Escherichia coli*: from biofilm formation to new antibiofilm strategies. *Microorganisms*, 10(6): 1103-1108.
- Bazaid, A. S., Saeed, A., Alrashidi, A., Alrashidi, A., Alshaghdali, K., A Hammam, S. and Aldarhami, A. 2021. Antimicrobial surveillance for bacterial uropathogens in Ha'il, Saudi Arabia: A Five-year multicenter retrospective study. *Infection and Drug Resistance*, 21(1): 1455-1465.
- Belete, M. A. 2020. Bacterial profile and ESBL screening of urinary tract infection among asymptomatic and symptomatic pregnant women attending antenatal care of northeastern Ethiopia region. *Infection and Drug Resistance*, 13(2): 25-79
- Beutler, B., Du, X. and Poltorak, A. 2001. Identification of Toll-like receptor 4 (Tlr4) as the sole conduit for LPS signal transduction: genetic and evolutionary studies. *Journal of Endotoxin Research*, 7(4): 277-280.
- Biggel, M., Heytens, S., Latour, K., Bruyndonckx, R., Goossens, H. and Moons, P. 2019. Asymptomatic bacteriuria in older adults: the most fragile women are prone to long-term colonization. *BMC Geriatrics*, 19(1): 1-11.
- Bilsen, M. P., Jongeneel, R. M., Schneeberger, C., Platteel, T. N., van Nieuwkoop, C., Mody, L. and Lambregts, M. M. 2023. Definitions of urinary tract infection in current research: a systematic review. In *Open Forum Infectious Diseases*. Oxford University Press, 10(7): 298-315.
- Bilyk, B. L., Panchal, V. V., Tinajero-Trejo, M., Hobbs, J. K. and Foster, S. J. 2022. An interplay of multiple positive and negative factors governs methicillin resistance in

- Staphylococcus aureus. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 86(2): 159-210.
- Biset, S., Moges, F., Endalamaw, D. and Eshetie, S. 2020. Multi-drug resistant and extended-spectrum β -lactamases producing bacterial uropathogens among pregnant women in Northwest Ethiopia. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 19(1): 1-9.
- Bitrus, A. A., Zunita, Z., Bejo, S. K., Othman, S. and Nadzir, N. A. A. 2017. In vitro transfer of methicillin resistance determinants mec A from methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) to methicillin susceptible Staphylococcus aureus (MSSA). BMC Microbiology, 17(6): 1-10.
- Bodro, M., Linares, L., Chiang, D., Moreno, A. and Cervera, C. 2018. Managing recurrent urinary tract infections in kidney transplant patients. Expert Review of Anti-Infective Therapy, 16(9): 723-732.
- Bonadio, M., Meini, M., Spitaleri, P. and Gigli, C. 2001. Current microbiological and clinical aspects of urinary tract infections. European Urology, 40(4): 439-445.
- Bonkat, G., Cai, T., Veeratterapillay, R., Bruyere, F., Bartoletti, R., Pilatz, A. and Wagenlehner, F. M. 2019. Management of Urosepsis in 2018. European Urology Focus, 5(1): 5-9.
- Bonkat, G., Pickard, R., Bartoletti, R., Bruyère, F., Geerlings, S. E., Wagenlehner, F. and Wullt, B. 2017. EAU guidelines on urological infections. European Association of Urology, 18(2): 22-6.
- Bonkat, G., Pickard, R., Bartoletti, R., Bruyère, F., Geerlings, S., Wagenlehner, F. and Veeratterapillay, R. 2018. Urological infections. Arnhem: European Association of Urology, 18(2): 23-26.
- Brand, A. M., De Kwaadsteniet, M. and Dicks, L. M. T. 2010. The ability of nisin F to control Staphylococcus aureus infection in the peritoneal cavity, as studied in mice. Letters in Applied Microbiology, 51(6): 645-649.
- Breijyeh, Z., Jubeh, B. and Karaman, R. 2020. Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. Molecules, 25(6): 13-40.
- Breiner-Goldstein, E., Eyal, Z., Matzov, D., Halfon, Y., Cimicata, G., Baum, M. and Yonath, A. 2021. Ribosome-binding and anti-microbial studies of the

- mycinamicins, 16-membered macrolide antibiotics from *Micromonospora griseorubida*. *Nucleic Acids Research*, 49(16): 9560-9573.
- Bruxvoort, K. J., Bider-Canfield, Z., Casey, J. A., Qian, L., Pressman, A., Liang, A. S. and Tartof, S. Y. 2020. Outpatient urinary tract infections in an era of virtual healthcare: trends from 2008 to 2017. *Clinical Infectious Diseases*, 71(1): 100-108.
- Buettcher, M., Trueck, J., Niederer-Loher, A., Heininger, U., Agyeman, P., Asner, S. and Neuhaus, T. J. 2021. Swiss consensus recommendations on urinary tract infections in children. *European Journal of Pediatrics*, 180(4): 663-674.
- Cao, X., Zhong, Q., Guo, Y., Hang, Y., Chen, Y., Fang, X. and Hu, L. 2021. Emergence of the coexistence of *mcr-1*, *bla* NDM-5, and *bla* CTX-M-55 in *Klebsiella pneumoniae* ST485 clinical isolates in China. *Infection and Drug Resistance*, 21(2): 3449-3458.
- Carroll, D. E., Marr, I., Huang, G., Holt, D. C., Tong, S. Y. and Boutlis, C. S. 2017. *Staphylococcus aureus* prostatic abscess: A clinical case report and a review of the literature. *BMC Infectious Diseases*, 17(1): 1-7.
- Castano-Rodriguez, N., Kaakoush, N. O., Pardo, A. L., Goh, K. L., Fock, K. M. and Mitchell, H. M. 2014. Genetic polymorphisms in the Toll-like receptor signalling pathway in *Helicobacter pylori* infection and related gastric cancer. *Human Immunology*, 75(8): 808-815.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention. 2019. Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. US Department of Health and Human Services, Centres for Disease Control and Prevention, 19(3): 1-90.
- Chauhan, A., Pandey, N., Desai, A., Raithatha, N., Patel, P., Choxi, Y. and Jain, N. 2019. Association of TLR4 and TLR9 gene polymorphisms and haplotypes with cervicitis susceptibility. *PLoS One*, 14(7): 220-330.
- Cheung, G. Y., Bae, J. S. and Otto, M. 2021. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1): 547-569.
- Chokshi, A., Sifri, Z., Cennimo, D. and Horng, H. 2019. Global contributors to antibiotic resistance. *Journal of Global Infectious Diseases*, 11(1): 36-39.
- Clarke, K. 2015. Catheter-associated urinary tract infections (CAUTIs). *Austin Journal of Clinical Medicine*, 2(1): 1022-1031.

- Cobos-Trigueros, N., Zboromyrska, Y., Morata, L., Alejo-Cancho, I., Calle, C. D. L., Vergara Gómez, A. and Martínez, J. A. M. M. 2017. Time-to-positivity, type of culture media and oxidase test performed on positive blood culture vials to predict *Pseudomonas aeruginosa* in patients with Gram-negative bacilli bacteraemia. *Revista Espanola de Quimioterapia*, 2017(30): 9-13.
- Codjoe, F. S. and Donkor, E. S. 2017. Carbapenem resistance: A review. *Medical Sciences*, 6(1): 1-2.
- Compain, F., Babosan, A., Brisse, S., Genel, N., Audo, J., Ailloud, F. and Decré, D. 2014. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(12): 4377-4380.
- Craven, B. C., Alavinia, S. M., Gajewski, J. B., Parmar, R., Disher, S., Ethans, K. and Welk, B. 2019. Conception and development of Urinary Tract Infection indicators to advance the quality of spinal cord injury rehabilitation: SCI-High Project. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, 42(1): 205-214.
- Crespo-Piazuelo, D. and Lawlor, P. G. 2021. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) prevalence in humans in close contact with animals and measures to reduce on-farm colonisation. *Irish Veterinary Journal*, 74(2): 1-12.
- Crosby, H. A., Kwiecinski, J. and Horswill, A. R. 2016. *Staphylococcus aureus* aggregation and coagulation mechanisms, and their function in host-pathogen interactions. *Advances in Applied Microbiology*, 96(2): 1-41.
- Crowley, E., Bird, P., Fisher, K., Goetz, K., Boyle, M., Benzinger, Jr, M. J. and Johnson, R. 2012. Evaluation of the VITEK 2 Gram-negative (GN) microbial identification test card: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 95(3): 778-785.
- Cruz, J., Figueiredo, F., Matos, A. P., Duarte, S., Guerra, A. and Ramalho, M. 2019. Infectious and inflammatory diseases of the urinary tract: Role of MR imaging. *Magnetic Resonance Imaging Clinics*, 27(1): 59-75.
- D'Andrea, M. M., Arena, F., Pallecchi, L. and Rossolini, G. M. 2013. CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(7): 305-317.

- Dabul, A. N. G., Kos, V. N., Gilmore, M. S. and Camargo, I. L. 2013. Draft genome sequence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain SA16, representative of an endemic clone from a Brazilian hospital. *Genome Announcements*, 1(5): 1110-1128.
- D'Andrea, M. M., Literacka, E., Zioga, A., Giani, T., Baraniak, A., Fiett, J. and Miriagou, V. 2011. Evolution and spread of a multidrug-resistant *Proteus mirabilis* clone with chromosomal AmpC-type cephalosporinases in Europe. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(6): 2735-2742.
- Daniel, W. W. 1978. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. John Wiley and Sons, 1348 page, New York.
- Dasgupta, N., Beletsky, L. and Ciccarone, D. 2018. Opioid crisis: no easy fix to its social and economic determinants. *American Journal of Public Health*, 108(2): 182-186.
- Dayan, G. H., Mohamed, N., Scully, I. L., Cooper, D., Begier, E., Eiden, J. and Anderson, A. S. 2016. *Staphylococcus aureus*: the current state of disease, pathophysiology and strategies for prevention. *Expert Review of Vaccines*, 15(11): 1373-1392.
- De Oliveira, D. M., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N., Schembri, M. A., Beatson, S. A. and Walker, M. J. 2020. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3): 1110-1128.
- Degtyareva, A. O., Antontseva, E. V. and Merkulova, T. I. 2021. Regulatory SNPs: altered transcription factor binding sites implicated in complex traits and diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12): 6454-6456.
- Delanghe, J. R. and Speeckaert, M. M. 2016. Preanalytics in urinalysis. *Clinical Biochemistry*, 49(18): 1346-1350.
- Delneste, Y., Beauvillain, C. and Jeannin, P. 2007. Innate immunity: structure and function of TLRs. *Medecine Sciences*, 23(1): 67-73.
- Demilie, T., Beyene, G., Melaku, S. and Tsegaye, W. 2014. Diagnostic accuracy of rapid urine dipstick test to predict urinary tract infection among pregnant women in Felege Hiwot Referral Hospital, Bahir Dar, North West Ethiopia. *BMC Research Notes*, 7(2): 1-5.
- Dhodi, D. K., Jaiswar, S., Bhagat, S. B. and Gambre, R. S. 2014. A study to evaluate prescribing pattern of antibiotics among patients of urinary tract infection with

- preexisting renal disorders in a tertiary care hospital. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 3(4): 687-691.
- Ding, L., Jiang, Q., Li, G., Shen, J., Du, J., Lu, X. and Xiong, X. 2017. Comprehensive assessment of association between TLR4 gene polymorphisms and cancer risk: A systematic meta-analysis. *Oncotarget*, 8(59): 1005-1093.
- Dosler, S. and Gerceker, A. A. 2011. In vitro activities of nisin alone or in combination with vancomycin and ciprofloxacin against methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains. *Chemotherapy*, 57(6): 511-516.
- Drake, R. 2010. TLR4 promoter variants influence response to UTI. *Nature Reviews Urology*, 7(7): 365-365.
- Drawz, S. M. and Bonomo, R. A. 2010. Three decades of β -lactamase inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1): 160-201.
- Duane, S., Vellinga, A., Murphy, A. W., Cormican, M., Smyth, A., Healy, P. and Devane, D. 2019. COSUTI: a protocol for the development of a core outcome set (COS) for interventions for the treatment of uncomplicated urinary tract infection (UTI) in adults. *Trials*, 20(1): 1-6.
- Eftekhari, F., Rastegar, M., Golalipoor, M. and Mansoursamaei, N. 2012. Detection of Extended Spectrum B-Lactamases in Urinary Isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Relation to blaSHV, blaTEM and blaCTX-M gene carriage. *Iranian Journal of Public Health*, 41(3): 127.
- El-Kashif, M. M. L. 2019. Urinary tract infection among pregnant women and its associated risk factors: A cross-sectional study. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 12(4): 2003-2010.
- Enogiomwan, F. O. and Ibeh, I. N. 2018. Forward and reverse characterization of the CTX-M genes associated with multi-drug resistant *Escherichia coli* isolated from pregnant mothers presenting with asymptomatic urinary tract infection in Benin City, Nigeria. *Acta Scientific Microbiology*, 1(1): 21-24.
- Eremenko, R., Barmatz, S., Lumelsky, N., Colodner, R., Strauss, M. and Alkan, Y. 2020. Urinary Tract Infection in Outpatient Children and Adolescents: Risk Analysis of Antimicrobial Resistance. *The Israel Medical Association Journal*, 22(4): 236-240.
- Fattorini, C., Lopez-Beltran, A. and Raspollini, M. R. 2020. Urothelial carcinoma, sarcomatoid type. *Uropathology*, 20(21): 491-493.

- Fisher, H., Oluboyede, Y., Chadwick, T., Abdel-Fattah, M., Brennand, C., Fader, M. and Pickard, R. 2018. Continuous low-dose antibiotic prophylaxis for adults with repeated urinary tract infections (AnTIC): A randomised, open-label trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(9): 957-968.
- Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M. and Hultgren, S. J. 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5): 269-284.
- Flores-Mireles, A., Hreha, T. N. and Hunstad, D. A. 2019. Pathophysiology, treatment, and prevention of catheter-associated urinary tract infection. *Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation*, 25(3): 228-240.
- Florio, W., Morici, P., Ghelardi, E., Barnini, S. and Lupetti, A. 2018. Recent advances in the microbiological diagnosis of bloodstream infections. *Critical Reviews in Microbiology*, 44(3): 351-370.
- Foster, T. J. 2017. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3): 430-449.
- Foulston, L., Elsholz, A. K., DeFrancesco, A. S. and Losick, R. 2014. The extracellular matrix of *Staphylococcus aureus* biofilms comprises cytoplasmic proteins that associate with the cell surface in response to decreasing pH. *MBio*, 5(5): 10-1128.
- Foxman, B., Gillespie, B., Koopman, J., Zhang, L., Palin, K., Tallman, P. and Marrs, C. F. 2000. Risk factors for second urinary tract infection among college women. *American Journal of Epidemiology*, 151(12): 1194-1205.
- Fu, Y. L. and Harrison, R. E. 2021. Microbial phagocytic receptors and their potential involvement in cytokine induction in macrophages. *Frontiers in Immunology*, 12(2): 662-663.
- Gajamer, V. R., Bhattacharjee, A., Paul, D., Ingti, B., Sarkar, A., Kapil, J. and Tiwari, H. K. 2020. High prevalence of carbapenemase, AmpC β -lactamase and aminoglycoside resistance genes in extended-spectrum β -lactamase-positive uropathogens from Northern India. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 20(1): 197-203.
- Gajdács, M., Ábrók, M., Lázár, A. and Burián, K. 2021. Urinary tract infections in elderly patients: A 10-year study on their epidemiology and antibiotic resistance based on

- the WHO Access, Watch, Reserve (AWaRe) classification. *Antibiotics*, 10(9): 1098-1099.
- Gao, P., Ho, P. L., Yan, B., Sze, K. H., Davies, J. and Kao, R. Y. T. 2018. Suppression of *Staphylococcus aureus* virulence by a small-molecule compound. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(31): 8003-8008.
- Gautam, V., Thakur, A., Sharma, M., Singh, A., Bansal, S., Sharma, A. and Ray, P. 2019. Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a multi-centric study from tertiary care hospitals in India. *The Indian Journal of Medical Research*, 149(2): 208-210.
- Gebretensaie, Y., Atnafu, A., Girma, S., Alemu, Y. and Desta, K. 2023. Prevalence of bacterial urinary tract infection, Associated Risk Factors, and antimicrobial resistance pattern in Addis Ababa, Ethiopia: A cross-sectional study. *Infection and Drug Resistance*, 23(2): 3041-3050.
- Ghonaim, R. and Moaety, H. 2018. Comparison between Multiplex PCR and Phenotypic Detection Methods for Identifying AmpC B. *Clinical Microbiology: Open Access* 18(2): 1-6.
- Godaly, G., Ambite, I. and Svanborg, C. 2015. Innate immunity and genetic determinants of urinary tract infection susceptibility. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 28(1): 88.
- Goldar, S., Khaniani, M. S., Derakhshan, S. M. and Baradaran, B. 2015. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(6): 2129-2144.
- Gootz, T. D. 2010. The global problem of antibiotic resistance. *Critical Reviews™ in Immunology*, 30(1): 23-25.
- Govindarajan, D. K., Viswalingam, N., Meganathan, Y. and Kandaswamy, K. 2020. Adherence patterns of *Escherichia coli* in the intestine and its role in pathogenesis. *Medicine in Microecology*, 5(1): 1000-1025.
- Grazul, M., Balcerczak, E. and Sienkiewicz, M. 2023. Analysis of the presence of the virulence and regulation genes from *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) in coagulase negative *Staphylococci* and the influence of the *Staphylococcal* cross-talk on their

- functions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(6): 51-55.
- Gundran, R. S., Cardenio, P. A., Villanueva, M. A., Sison, F. B., Benigno, C. C., Kreausukon, K. and Punyapornwithaya, V. 2019. Prevalence and distribution of bla CTX-M, bla SHV, bla TEM genes in extended-spectrum β -lactamase-producing *E. coli* isolates from broiler farms in the Philippines. *BMC Veterinary Research*, 15(4): 1-8.
- Gupta, K., Grigoryan, L. and Trautner, B. 2017. Urinary tract infection. *Annals of Internal Medicine*, 167(7): 49-64.
- Guyen-Maiorov, E., Keskin, O., Gursoy, A., VanWaes, C., Chen, Z., Tsai, C. J. and Nussinov, R. 2015. The architecture of the TIR domain signalosome in the Toll-like receptor-4 signaling pathway. *Scientific Reports*, 5(1): 13128.
- Hato, T. and Dagher, P. C. 2015. How the innate immune system senses trouble and causes trouble. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, 10(8): 1459.
- Hilt, E. E., McKinley, K., Pearce, M. M., Rosenfeld, A. B., Zilliox, M. J., Mueller, E. R. and Schreckenberger, P. C. 2014. Urine is not sterile: use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(3): 871-876.
- Hishida, A., Matsuo, K., Goto, Y. and Hamajima, N. 2010. Genetic predisposition to *Helicobacter pylori*-induced gastric precancerous conditions. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2(10): 369-380.
- Ho, W. S., Balan, G., Puthucherry, S., Kong, B. H., Lim, K. T., Tan, L. K. and Thong, K. L. 2012. Prevalence and characterization of multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from pediatric wards of a Malaysian hospital. *Microbial Drug Resistance*, 18(4): 408-416.
- Holt, K. E., Wertheim, H., Zadoks, R. N., Baker, S., Whitehouse, C. A., Dance, D. and Thomson, N. R. 2015. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(27): 3574-3581.

- Hooton, T. M., Bradley, S. F., Cardenas, D. D., Colgan, R., Geerlings, S. E., Rice, J. C. and Nicolle, L. E. 2010. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 50(5): 625-663.
- Idrees, M. M. and Saeed, A. 2021. Genetic and molecular mechanisms of multidrug-resistance in uropathogens and novel therapeutic combat. *Biochemistry of Drug Resistance*, 21(1): 505-538.
- Idrees, M. M., Saeed, K., Shahid, M. A., Akhtar, M., Qammar, K., Hassan, J. and Saeed, A. 2023. Prevalence of mecA-and mecC-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Clinical Specimens, Punjab, Pakistan. *Biomedicines*, 11(3): 878-880.
- Islam, M. T., Alam, A. R. U., Sakib, N., Hasan, M. S., Chakrovarty, T., Tawyabur, M. and Anwar Hossain, M. 2021. A rapid and cost-effective multiplex ARMS-PCR method for the simultaneous genotyping of the circulating SARS-CoV-2 phylogenetic clades. *Journal of Medical Virology*, 93(5): 2962-2970.
- Ismail, B., Shafei, M. N., Harun, A., Ali, S., Omar, M. and Deris, Z. Z. 2018. Predictors of polymyxin B treatment failure in Gram-negative healthcare-associated infections among critically ill patients. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51(6): 763-769.
- Ito, M., Hanaoka, M., Droma, Y., Kobayashi, N., Yasuo, M., Kitaguchi, Y. and Ota, M. 2012. The association of Toll-like receptor 4 gene polymorphisms with the development of emphysema in Japanese subjects: a case control study. *BMC Research Notes*, 5(1): 1-8.
- Ito, S., Hanaoka, N., Shimuta, K., Seike, K., Tsuchiya, T., Yasuda, M. and Deguchi, T. 2016. Male non-gonococcal urethritis: From microbiological etiologies to demographic and clinical features. *International Journal of Urology*, 23(4): 325-331.
- Jahandeh, N., Ranjbar, R., Behzadi, P. and Behzadi, E. 2015. Uropathogenic *Escherichia coli* virulence genes: invaluable approaches for designing DNA microarray probes. *Central European Journal of Urology*, 68(4): 452.

- Jain, M., Farooq, U., Begum, R., Tak, V., Verma, A. and Gupta, J. 2015. Bacteriological study of urinary tract infection in ante-natal patients in Teerthanker Mahaveer University, Moradabad. *International Journal of Scientific Study*, 3(3): 33-37.
- Jalal, N. A., Al-Ghamdi, A. M., Momenah, A. M., Ashgar, S. S., Bantun, F., Bahwerth, F. S. and Faidah, H. 2023. Prevalence and antibiogram pattern of *Klebsiella pneumoniae* in a Tertiary Care Hospital in Makkah, Saudi Arabia: An 11-year experience. *Antibiotics*, 12(1): 164-169.
- Janda, J. M. and 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.
- Jawad, N. and Khowman, S. 2017. Prevalence β -lactamase broad-spectrum type TEM between isolates of *Proteus mirabilis* in AL-Diwaniya City. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 9(2): 12-18.
- Jawetz, E., Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A. and Mietzner, T. A. 2013. *Jawetz-Melnick and Adelberg's medical microbiology*. McGraw Hill, 880 page, New York.
- Jena, J., Sahoo, R. K., Debata, N. K. and Subudhi, E. 2017. Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections in adults. *3 Biotech*, 7(7): 1-7.
- Jiang, S., Ma, J., Ye, S., Meaney, C., Moore, T. E., Pan, S. and Gao, C. 2022. Associations among disseminated intravascular coagulation, thrombocytopenia cytokines/chemokines and genetic polymorphisms of toll-like receptor 2/4 in Chinese patients with sepsis. *Journal of Inflammation Research*, 22(1): 1-15.
- Jin, Y., Qiu, S., Shao, N. and Zheng, J. 2017. Association of toll-like receptor gene polymorphisms and its interaction with HPV infection in determining the susceptibility of cervical cancer in Chinese Han population. *Mammalian Genome*, 28(2): 213-219.
- John, A. S., Mboto, C. I. and Agbo, B. 2016. A review on the prevalence and predisposing factors responsible for urinary tract infection among adults. *European Journal of Experimental Biology*, 6(4): 7-11.
- Johnson, J. R. and Russo, T. A. 2018. Acute pyelonephritis in adults. *New England Journal of Medicine*, 378(1): 48-59.

- Jubeh, B., Breijyeh, Z. and Karaman, R. 2020. Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. *Molecules*, 25(12): 28-88.
- Kadhim, G. H., Hasan, S. F. and Jeddoa, Z. 2022. Toll-like receptor 4 gene polymorphism of patients with urinary tract infection in Karbala province, Iraq. In *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing, 2547(1): 2-4.
- Kadri, S. S., Lai, Y. L., Warner, S., Strich, J. R., Babiker, A., Ricotta, E. E. and Adjemian, J. 2021. Inappropriate empirical antibiotic therapy for bloodstream infections based on discordant in-vitro susceptibilities: a retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and mortality risk in US hospitals. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(2): 241-251.
- Kakoullis, L., Papachristodoulou, E., Chra, P. and Panos, G. 2021. Mechanisms of antibiotic resistance in important gram-positive and gram-negative pathogens and novel antibiotic solutions. *Antibiotics*, 10(4): 415-416.
- Kang, C. I., Kim, J., Park, D. W., Kim, B. N., Ha, U. S., Lee, S. J. and Wie, S. H. 2018. Clinical practice guidelines for the antibiotic treatment of community-acquired urinary tract infections. *Infection and Chemotherapy*, 50(1): 67-69.
- Karami, N., Lindblom, A., Yazdanshenas, S., Lindén, V. and Åhrén, C. 2020. Recurrence of urinary tract infections with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* caused by homologous strains among which clone ST131-O25b is dominant. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22(6): 126-132.
- Karlowsky, J. A., Nichol, K. and Zhanel, G. G. 2015. Telavancin: mechanisms of action, in vitro activity, and mechanisms of resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 61(2): 58-68.
- Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A. and Najjuka, F. C. 2010. Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9(1): 1-7.
- Kawai, T. and Akira, S. 2011. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*, 34(5): 637-650.
- Khan, F. U., Ihsan, A. U., Khan, H. U., Jana, R., Wazir, J., Khongorzul, P. and Zhou, X. 2017. Comprehensive overview of prostatitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94(1): 1064-1076.

- Khelissa, S. O., Jama, C., Abdallah, M., Boukherroub, R., Faille, C. and Chihib, N. E. 2017. Effect of incubation duration, growth temperature, and abiotic surface type on cell surface properties, adhesion and pathogenicity of biofilm-detached *Staphylococcus aureus* cells. *AMB Express*, 7(1): 1-13.
- Khoshnood, S., Heidary, M., Asadi, A., Soleimani, S., Motahar, M., Savari, M. and Abdi, M. 2019. A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of mupirocin against *Staphylococcus aureus*. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 109(9): 1809-1818.
- Kim, H. J., Bae, J. S., Chang, I. H., Kim, K. D., Lee, J., Shin, H. D. and Myung, S. C. 2012. Sequence variants of toll-like receptor 4 (TLR4) and the risk of prostate cancer in Korean men. *World Journal of Urology*, 30(1): 225-232.
- Kim, H. M., Park, B. S., Kim, J. I., Kim, S. E., Lee, J., Oh, S. C. and Lee, J. O. 2007. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell*, 130(5): 906-917.
- Klein, R. D. and Hultgren, S. J. 2020. Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host-pathogen interactions and new treatment strategies. *Nature Reviews Microbiology*, 18(4): 211-226.
- Komijani, M., Shahin, K., Azhar, E. I. and Bahram, M. 2022. Designing PCR primers for the amplification-refractory mutation system. *PCR Primer Design*, 22(3): 93-99.
- Korneev, K. V., Sviriaeva, E. N., Mitkin, N. A., Gorbacheva, A. M., Uvarova, A. N., Ustiugova, A. S. and Kuprash, D. V. 2020. Minor C allele of the SNP rs7873784 associated with rheumatoid arthritis and type-2 diabetes mellitus binds PU. 1 and enhances TLR4 expression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1866(3): 1656-1726.
- Kotian, H. S., Abdulla, A. Z., Hithysini, K. N., Harkar, S., Joge, S., Mishra, A. and Varma, M. M. 2020. Active modulation of surfactant-driven flow instabilities by swarming bacteria. *Physical Review*, 101(1): 124-207.
- Kulkarni, K. and Pathak, N. 2016. Asymptomatic bacteriuria due to MDR organisms in Type 2 diabetes mellitus patients. *International Journal of Health Sciences and Research*. 7(1): 68-74.

- Kurts, C., Panzer, U., Anders, H. J. and Rees, A. J. 2013. The immune system and kidney disease: basic concepts and clinical implications. *Nature Reviews Immunology*, 13(10): 738-753.
- Lagier, J. C., Edouard, S., Pagnier, I., Mediannikov, O., Drancourt, M. and Raoult, D. 2015. Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(1): 208-236.
- Lane, D. R. and Takhar, S. S. 2011. Diagnosis and management of urinary tract infection and pyelonephritis. *Emergency Medicine Clinics*, 29(3): 539-552.
- Lawes, T., Lopez-Lozano, J. M., Nebot, C. A., Macartney, G., Subbarao-Sharma, R., Dare, C. R. and Gould, I. M. 2015. Effects of national antibiotic stewardship and infection control strategies on hospital-associated and community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections across a region of Scotland: A non-linear time-series study. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(12): 1438-1449.
- Lawi, Z. K., Al-Shuhaib, M. B. S., Amara, I. B. and Alkhammas, A. H. 2022. Two missense variants of the epidermal growth factor receptor gene are associated with non small cell lung carcinoma in the subjects from Iraq. *Molecular Biology Reports*, 49(12): 11653-11661.
- Lazim, H., Almohammed, E. K., Hadi, S. and Smith, J. 2020. Population genetic diversity in an Iraqi population and gene flow across the Arabian Peninsula. *Scientific Reports*, 10(1): 152-189.
- Leclercq, R. and Courvalin, P. 2002. Resistance to macrolides and related antibiotics in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(9): 2727-2734.
- Lee, J. H., Subhadra, B., Son, Y. J., Kim, D. H., Park, H. S., Kim, J. M. and Choi, C. H. 2016. Phylogenetic group distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infections in South Korea. *Letters in Applied Microbiology*, 62(1): 84-90.
- Lehmann, L. E., Hauser, S., Malinka, T., Klaschik, S., Stüber, F. and Book, M. 2010. Real-time polymerase chain-reaction detection of pathogens is feasible to supplement the diagnostic sequence for urinary tract infections. *BJU International*, 106(1): 114-120.

- Leite, F. R., Enevold, C., Bendtzen, K., Baelum, V. and López, R. 2019. Pattern recognition receptor polymorphisms in early periodontitis. *Journal of Periodontology*, 90(6): 647-654.
- Lhwak, N. S. and Abbas, Y. A. 2018. Detection of extended spectrum β -lactmase Genes CTX-M-1 in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* isolated from urinary tract infection of pregnant women in Al-Nassyriah City. *University of Thi-Qar Journal of Science*, 2(4): 92-96.
- Li, T., Liu, X., Ning, H., Li, X., Yang, J. and Ma, C. 2020. Association of Toll-like receptor 4 gene polymorphisms with acute aortic dissection in a Chinese Han population. *BioMed Research International*, 21(1): 159-165.
- Li, X., Xing, Y., Jiang, Y., Ding, Y. and Li, W. 2009. Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(11): 2161-2168.
- Li, Z., Song, A. and Yu, H. 2019. Interaction between toll-like receptor 4 (TLR4) gene and alcohol drinking on Parkinson's disease risk in Chinese Han population. *Journal of Clinical Neuroscience*, 62(1): 128-132.
- Linko, S., Kouri, T. T., Toivonen, E., Ranta, P. H., Chapoulaud, E. and Lalla, M. 2006. Analytical performance of the Iris iQ200 automated urine microscopy analyzer. *Clinica Chimica Acta*, 372(1-2): 54-64.
- Livermore, D. M. 2012. Fourteen years in resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(4): 283-294.
- Lo, E., Nicolle, L. E., Coffin, S. E., Gould, C., Maragakis, L. L., Meddings, J. and Yokoe, D. S. 2014. Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals: 2014 update. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 35(5): 464-479.
- Lowy, F. D. 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(9): 1265-1273.
- Luu, T. and Albarillo, F. S. 2022. Asymptomatic bacteriuria: prevalence, diagnosis, management, and current antimicrobial stewardship implementations. *The American Journal of Medicine*, 22(1): 1-9.
- MacFaddin, J. F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria. *Williams and Wilkins*, 113(7): 1-3.

- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G. and Monnet, D. L. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3): 268-281.
- Magruder, M., Sholi, A. N., Gong, C., Zhang, L., Edusei, E., Huang, J. and Lee, J. R. 2019. Gut uropathogen abundance is a risk factor for development of bacteriuria and urinary tract infection. *Nature Communications*, 10(1): 5521-5528.
- Mahdi Al-Buhilal, J. A., Saad, M., and Al-Rubaey, N. K. F. 2021. Molecular detection of *ermA*, *ermB* and *ermC* genes among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients with ocular infections. *Biochemical and Cellular Archives*, 21(1): 22-24.
- Mahrouki, S., Belhadj, O., Chihi, H., Mohamed, B. M., Celenza, G., Amicosante, G. and Perilli, M. 2012. Chromosomal *bla* CTX-M-15 associated with IS Ecp1 in *Proteus mirabilis* and *Morganella morganii* isolated at the Military Hospital of Tunis, Tunisia. *Journal of Medical Microbiology*, 61(9): 1286-1289.
- Maina, D. and Kagotho, E. 2014. Suitability of Vitek 2 system in identification and susceptibility testing of Gram negative bacteremias by direct inoculation. *East African Medical Journal*, 91(4): 115-118.
- Malachowa, N., Kobayashi, S. D., Porter, A. R., Braughton, K. R., Scott, D. P., Gardner, D. J. and DeLeo, F. R. 2016. Contribution of *Staphylococcus aureus* coagulases and clumping factor A to abscess formation in a rabbit model of skin and soft tissue infection. *PLoS One*, 11(6): 158-293.
- Mansfield, K. J., Chen, Z., Moore, K. H. and Grundy, L. 2022. Urinary Tract Infection in Overactive Bladder: An Update on Pathophysiological Mechanisms. *Frontiers in Physiology*, 22(5): 11-41.
- Mansur, A., Gruben, L. V., Popov, A. F., Steinau, M., Bergmann, I., Ross, D. and Hinz, J. 2014. The regulatory toll-like receptor 4 genetic polymorphism rs11536889 is associated with renal, coagulation and hepatic organ failure in sepsis patients. *Journal of Translational Medicine*, 12(2): 1-9.

- Mao, B. H., Chang, Y. F., Scaria, J., Chang, C. C., Chou, L. W., Tien, N. and Teng, C. H. 2012. Identification of *Escherichia coli* genes associated with urinary tract infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(2): 449-456.
- Maurya, S. K. and Singh, A. K. 2014. Clinical efficacy of *Moringa oleifera* Lam. stems bark in urinary tract infections. *International Scholarly Research Notices*, 137(5), 640-645.
- McLellan, L. K. and Hunstad, D. A. 2016. Urinary tract infection: pathogenesis and outlook. *Trends in Molecular Medicine*, 22(11): 946-957.
- Mekonnen, S., Tesfa, T., Shume, T., Tebeje, F., Urgesa, K. and Weldegebreal, F. 2023. Bacterial profile, their antibiotic susceptibility pattern, and associated factors of urinary tract infections in children at Hiwot Fana Specialized University Hospital, Eastern Ethiopia. *Plos One*, 18(4): 2836-2937.
- Merida-Vieyra, J., Colsa-Ranero, D., Calderón-Castañeda, Y. and Aquino-Andrade, A. 2020. Detection of CMY-type beta-lactamases in *Escherichia coli* isolates from paediatric patients in a tertiary care hospital in Mexico. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 9(1): 1-10.
- Meštrović, T., Matijašić, M., Perić, M., Čipčić Paljetak, H., Barešić, A. and Verbanac, D. 2020. The role of gut, vaginal, and urinary microbiome in urinary tract infections: from bench to bedside. *Diagnostics*, 11(1): 7-10.
- Miajlovic, H. and Smith, S. G. 2014. Bacterial self-defence: how *Escherichia coli* evades serum killing. *FEMS Microbiology Letters*, 354(1): 1-9.
- Miedema, K. G. E., Te Poele, E. M., Tissing, W. J. E., Postma, D. S., Koppelman, G. H., De Pagter, A. P. and De Bont, E. S. J. M. 2011. Association of polymorphisms in the TLR4 gene with the risk of developing neutropenia in children with leukemia. *Leukemia*, 25(6): 995-1000.
- Mihaylova, M., Kostadinova, S. and Marhova, M. 2012. Distribution of virulence determinants and biofilmforming among clinical urinary isolates. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 12(2): 45-51.
- Mikłasińska-Majdanik, M. 2021. Mechanisms of resistance to macrolide antibiotics among *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*, 10(11): 1406-1409.
- Modhiran, N., Watterson, D., Muller, D. A., Panetta, A. K., Sester, D. P., Liu, L. and Young, P. R. 2015. Dengue virus NS1 protein activates cells via Toll-like receptor

- 4 and disrupts endothelial cell monolayer integrity. *Science Translational Medicine*, 7(304), 304-305.
- Moges, F., Tamiru, T., Amare, A., Mengistu, G., Eshetie, S., Dagnew, M. and Abebe, W. 2023. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multidrug-resistant strains from patients attending the Referral Hospitals of Amhara Regional State, Ethiopia. *International Journal of Microbiology*, 20(23): 1-8.
- Mohammed, S. O., Ahmed, E. S., Hafez, E. E., Khalid, A. and ElShahaby, O. A. 2014. Characterization and purification of urease enzyme from new *Proteus mirabilis* strain". *Journal of Advanced Scientific Research* 5(4): 45-49.
- Mohamudha Parveen, R., Manivannan, S., Harish, B. N. and Parija, S. C. 2012. Study of CTX-M type of extended spectrum β -lactamase among nosocomial isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in South India. *Indian Journal of Microbiology*, 52(1): 35-40.
- Mostafa, M., Elwasify, M., Fathy, A. A. and Abdelsalam, M. 2022. Toll-like receptor 4 gene polymorphisms and susceptibility to schizophrenia: A case-control study. *Immunological Investigations*, 51(7): 2009-2024.
- Mourabit, N., Arakrak, A., Bakkali, M., Zian, Z., Bakkach, J. and Laglaoui, A. 2021. Antimicrobial resistance trends in *Staphylococcus aureus* strains carried by poultry in North of Morocco: A Preliminary Analysis. *Journal of Food Quality*, 20(21), 1-5.
- Muqdad, J. A. 2022. Molecular study for the isolation and identification of bacteria causing urinary tract infection in pregnant women and the identification of antibiotic resistance genes in southern Iraq. MSc. Thesis, University of Thi-Qar, 88 page, Thi-Qar.
- Murphy, K. and Weaver, C. 2016. *Janeway's immunobiology*. Garland science, 924 page, New York.
- Münch, D., Müller, A., Schneider, T., Kohl, B., Wenzel, M., Bandow, J. E. and Sahl, H. G. 2014. The lantibiotic NAI-107 binds to bactoprenol-bound cell wall precursors and impairs membrane functions. *Journal of Biological Chemistry*, 289(17): 12063-12076.
- Mwakyoma, A. A., Kidenya, B. R., Minja, C. A., Mushi, M. F., Sandeman, A., Sabiti, W. and Mshana, S. E. 2023. Allele distribution and phenotypic resistance to

- ciprofloxacin and gentamicin among extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from the urine, stool, animals, and environments of patients with presumptive urinary tract infection in Tanzania. *Frontiers in Antibiotics*, 2(1): 1164-1201.
- Nakama, R., Shingaki, A., Miyazato, H., Higa, R., Nagamoto, C., Hamamoto, K. and Hirai, I. 2016. Current status of extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* in Okinawa prefecture, Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 22(5): 281-286.
- Naqid, I. A., Hussein, N. R., Balatay, A. A., Saeed, K. A. and Ahmed, H. A. 2020. The antimicrobial resistance pattern of *Klebsiella pneumonia* isolated from the clinical specimens in Duhok City in Kurdistan Region of Iraq. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences*, 24(2): 23-25.
- Naziri, Z., Derakhshandeh, A., Soltani Borchaloe, A., Poormaleknia, M. and Azimzadeh, N. 2020. Treatment failure in urinary tract infections: a warning witness for virulent multi-drug resistant ESBL-producing *Escherichia coli*. *Infection and Drug Resistance*, 20(1): 1839-1850.
- Nicolas-Chanoine, M. H., Bertrand, X. and Madec, J. Y. 2014. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3): 543-574.
- Niederstebruch, N., Sixt, D., Benda, B. I. and Banboye, N. 2017. A suitable blood agar containing human blood especially for the use in laboratories of developing countries. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 11(05): 399-406.
- Nieuwenburg, S. A. V., Mommersteeg, M. C., Eikenboom, E. L., Yu, B., den Hollander, W. J., Holster, I. L. and Spaander, M. C. 2021. Factors associated with the progression of gastric intestinal metaplasia: a multicenter, prospective cohort study. *Endoscopy International Open*, 9(3): 297-305.
- Nordmann, P., Dortet, L. and Poirel, L. 2012. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm!. *Trends in Molecular Medicine*, 18(5): 263-272.
- Noreen, M., Shah, M. A. A., Mall, S. M., Choudhary, S., Hussain, T., Ahmed, I. and Raza, M. I. 2012. TLR4 polymorphisms and disease susceptibility. *Inflammation Research*, 61(1): 177-188.

- Oliveira, D., Borges, A. and Simões, M. 2018. Staphylococcus aureus toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*, 10(6): 252.
- O'Neill, L. A. and Bowie, A. G. 2007. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nature Reviews Immunology*, 7(5): 353-364.
- Ouchar Mahamat, O., Lounnas, M., Hide, M., Dumont, Y., Tidjani, A., Kamougam, K. and Godreuil, S. 2019. High prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae in Chadian hospitals. *BMC Infectious Diseases*, 19(7): 1-7.
- Padovan, J., Ralić, J., Letfus, V., Milić, A. and Bencetić Mihaljević, V. 2012. Investigating the barriers to bioavailability of macrolide antibiotics in the rat. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 37(3): 163-171.
- Pandey, N. O., Chauhan, A. V., Raithatha, N. S., Patel, P. K., Khandelwal, R., Desai, A. N. and Jain, N. D. 2019. Association of TLR4 and TLR9 polymorphisms and haplotypes with cervical cancer susceptibility. *Scientific Reports*, 9(1): 9729-9730.
- Papadimitraki, E. D., Bertsias, G. K. and Boumpas, D. T. 2007. Toll like receptors and autoimmunity: A critical appraisal. *Journal of Autoimmunity*, 29(4): 310-318.
- Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N. and Jensen, S. O. 2018. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4): 88-117.
- Peacock, S. J. and Paterson, G. K. 2015. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annual Review of Biochemistry*, 84(2): 577-601.
- Peerayeh, S. N., Mahabadi, R. P., Toupkanlou, S. P. and Siadat, S. D. 2014. Diversity of β -lactamases produced by imipenem resistant, *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the bloodstream. *Burns*, 40(7): 1360-1364.
- Pfaller, M. A. and Segreti, J. 2006. Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum β -Lactamases. *Clinical Infectious Diseases*, 42(4): 153-163.
- Pitt, S. J. 2018. *Clinical Microbiology for Diagnostic Laboratory Scientists*. John Wiley & Sons, 296 page, New Jersey.
- Poirel, L., Vuillemin, X., Juhas, M., Masseron, A., Bechtel-Grosch, U., Tiziani, S. and Nordmann, P. 2020. KPC-50 confers resistance to ceftazidime-avibactam

- associated with reduced carbapenemase activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(8): 10-1128.
- Portman, D. J. and Gass, M. L. 2014. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *The Journal of Sexual Medicine*, 11(12): 2865-2872.
- Qazaryan, K. S. Y. and Karim, S. K. 2019. The clinical link of preschoolers' picky eating behavior with their growth, development, nutritional status, and physical activity in Iraq/Kurdistan region. *Highlights on Medicine and Medical Science*, 5(1): 119-132.
- Quaia, E., Gennari, A. G. and Cova, M. A. 2018. Ultrasound of upper urinary tract infections. In *Imaging and Intervention in Urinary Tract Infections and Urosepsis*. Springer, 18(2): 57-71.
- Quezada-Aguiluz, M., Aguayo-Reyes, A., Carrasco, C., Mejías, D., Saavedra, P., Mella-Montecinos, S. and González-Rocha, G. 2022. Phenotypic and genotypic characterization of macrolide, lincosamide and streptogramin b resistance among clinical methicillin-resistant *S. taphylococcus aureus* isolates in Chile. *Antibiotics*, 11(8): 1000-1003.
- Rafiei, A., Abedini, M., Hosseini, S. H., Hosseini-Khah, Z., Bazrafshan, B. and Tehrani, M. 2012. Toll like receptor-4 896A/G gene variation, a risk factor for migraine headaches. *Iranian Journal of Immunology*, 9(3): 159-160.
- Rahaman, M., Mukherjee, M. and Chakravorty, N. 2021. Genetic disorders, genotyping techniques and the emerging role of Tetra-ARMS-PCR as a diagnostic tool. *Resonance*, 26(1): 1229-1240.
- Ramadan, A. A., Abdelaziz, N. A., Amin, M. A. and Aziz, R. K. 2019. Novel blaCTX-M variants and genotype-phenotype correlations among clinical isolates of extended spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, 9(1): 1-12.
- Ramanathan, B., Jindal, H. M., Le, C. F., Gudimella, R., Anwar, A., Razali, R. and Sekaran, S. D. 2017. Next generation sequencing reveals the antibiotic resistant variants in the genome of *Pseudomonas aeruginosa*. *PloS One*, 12(8): 0182-524.
- Ranjbar, R., Memariani, H., Sorouri, R. and Memariani, M. 2016. Distribution of virulence genes and genotyping of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae*

- isolated from patients with community-acquired urinary tract infection (CA-UTI). *Microbial Pathogenesis*, 100(2): 244-249.
- Rawal, M., Lamba, S., Agarwal, N. and Kansal, A. 2017. A prospective microbiological study of urinary tract infection. *Indian Journal of Scientific Research*, 7(2): 131-134.
- Reisner, A., Maierl, M., Jörger, M., Krause, R., Berger, D., Haid, A. and Zechner, E. L. 2014. Type 1 fimbriae contribute to catheter-associated urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 196(5): 931-939.
- Rice, L. B. 2008. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: No ESKAPE. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(8): 1079-1081.
- Rossi, F., Diaz, L., Wollam, A., Panesso, D., Zhou, Y., Rincon, S. and Arias, C. A. 2014. Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage. *New England Journal of Medicine*, 370(16): 1524-1531.
- Rotondo, C. M. and Wright, G. D. 2017. Inhibitors of metallo- β -lactamases. *Current Opinion in Microbiology*, 39(1): 96-105.
- Rozwandowicz, M., Brouwer, M. S. M., Fischer, J., Wagenaar, J. A., Gonzalez-Zorn, B., Guerra, B. and Hordijk, J. 2018. Plasmids carrying antimicrobial resistance genes in *Enterobacteriaceae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(5): 1121-1137.
- Sahi, S. V., Rogozińska, E., Sobhy, S. and Khan, K. S. 2017. Accuracy of tests used to detect infection with *Chlamydia trachomatis* in asymptomatic pregnant women: a systematic review. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 29(6): 375-382.
- Saleem, M. O., Hamawy, K. and Haddad, L. M. 2021. Hematuria (Nursing). *Europe PMC*, 21(3): 337-405.
- Salvatore, S., Salvatore, S., Cattoni, E., Siesto, G., Serati, M., Sorice, P. and Torella, M. 2011. Urinary tract infections in women. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 156(2): 131-136.
- Sargiary, P., Baro, L., Choudhry, G. and Saikia, L. 2016. Bacteriological profile and antimicrobial susceptibility pattern of community acquired urinary tract infection in children: a tertiary care experience. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 15(6): 61-65.
- Sarwar, F. Y. M. I., Sherwani, A. H. S. K., Hussain, M. S., Zeb, M. and Sarwar, I. 2014. Identification of *Staphylococcus aureus* in Pus samples and its Anti-microbial

- Susceptibility against Imipenem, Tobramycin and Linezolid. *International Journal of Basic Medical Sciences and Pharmacy*, 4(1): 32-37.
- Sathiananthamoorthy, S., Malone-Lee, J., Gill, K., Tymon, A., Nguyen, T. K., Gurung, S. and Rohn, J. L. 2019. Reassessment of routine midstream culture in diagnosis of urinary tract infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(3): 1452-1518.
- Sawa, T., Kooguchi, K. and Moriyama, K. 2020. Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *Journal of Intensive Care*, 8(4): 1-13.
- Sawalha, R. M. H. 2009. Prevalence of urinary tract infection among children of primary schools in Nablus. PhD. Thesis, An-Najah National University, 88 page, Nablus.
- Scerbo, M. H., Kaplan, H. B., Dua, A., Litwin, D. B., Ambrose, C. G., Moore, L. J. and Holcomb, J. B. 2016. Beyond blood culture and Gram stain analysis: A review of molecular techniques for the early detection of bacteremia in surgical patients. *Surgical Infections*, 17(3): 294-302.
- Scherer, K., Wiedemann, I., Ciobanasu, C., Sahl, H. G. and Kubitscheck, U. 2013. Aggregates of nisin with various bactoprenol-containing cell wall precursors differ in size and membrane permeation capacity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1828(11): 2628-2636.
- Schönfeld, W. and Kirst, H. A. 2002. Macrolide antibiotics. Springer Science & Business Media, 323 page, Berlin.
- Shaaban, M., Elshaer, S. L. and Abd El-Rahman, O. A. 2022. Prevalence of extended-spectrum β -lactamases, AmpC, and carbapenemases in *Proteus mirabilis* clinical isolates. *BMC Microbiology*, 22(1): 247-250.
- Shapiro, T., Dalton, M., Hammock, J., Lavery, R., Matjucha, J. and Salo, D. F. 2005. The prevalence of urinary tract infections and sexually transmitted disease in women with symptoms of a simple urinary tract infection stratified by low colony count criteria. *Academic Emergency Medicine*, 12(1): 38-44.
- Sharma, J., Sharma, M. and Ray, P. 2010. Detection of TEM and SHV genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary care hospital from India. *Indian Journal of Medical Research*, 132(3): 332-337.
- Shi, H., Sun, F., Chen, J., Ou, Q., Feng, W., Yong, X. and Xia, P. 2015. Epidemiology of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing nosocomial-

- Escherichia coli* infection in China. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14(1): 1-5.
- Shilpakar, A., Ansari, M., Rai, K. R., Rai, G. and Rai, S. K. 2021. Prevalence of multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase producing Gram-negative isolates from clinical samples in a tertiary care hospital of Nepal. *Tropical Medicine and Health*, 49(1): 1-9.
- Shimoni, Z., Salah, M., Kasem, A., Hermush, V. and Froom, P. 2020. Bacterial resistance to cephalosporin treatment in elderly stable patients hospitalized with a urinary tract infection. *The American Journal of the Medical Sciences*, 360(3): 243-247.
- Shui, I. M., Stark, J. R., Penney, K. L., Schumacher, F. R., Epstein, M. M., Pitt, M. J. and Mucci, L. A. 2012. Genetic variation in the toll-like receptor 4 and prostate cancer incidence and mortality. *The Prostate*, 72(2): 209-216.
- Simon-Oke, I., Odeyemi, O. and Afolabi, O. J. 2019. Incidence of urinary tract infections and antimicrobial susceptibility pattern among pregnant women in Akure, Nigeria. *Scientific African*, 6(2): 151-153.
- Spadafino, J. T., Cohen, B., Liu, J. and Larson, E. 2014. Temporal trends and risk factors for extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in adults with catheter-associated urinary tract infections. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 3(1): 1-4.
- Spencer, J. D., Schwaderer, A. L., Becknell, B., Watson, J. and Hains, D. S. 2014. The innate immune response during urinary tract infection and pyelonephritis. *Pediatric Nephrology*, 29(7): 1139-1149.
- Stark, L. 2013. *Staphylococcus aureus: aspects of pathogenesis and molecular epidemiology*. PhD. Thesis, Linköping University, 143 page, Linköping.
- Sumon, A. S. H., Al-Mahmood, M. R., Islam, K. A., Karim, A. E., Aker, P., Ullah, A. and Rashid-Al-Mahmood, M. 2023. Multidrug Resistance urinary tract infection in chronic kidney disease patients: An observational study. *Cureus*, 15(5): 109-121.
- Tadesse, S., Kahsay, T., Adhanom, G., Kahsu, G., Legese, H. and Derbie, A. 2018. Prevalence, antimicrobial susceptibility profile and predictors of asymptomatic bacteriuria among pregnant women in Adigrat General Hospital, Northern Ethiopia. *BMC Research Notes*, 11(1): 1-6.

- Talebi, G., Hashemia, A., Goudarzi, H., Shariati, A., Bostanghadiri, N., Sharahi, J. Y. and Abbsi, E. 2019. Survey of *ermA*, *ermB*, *ermC* and *mecA* genes among *Staphylococcus aureus* isolates isolated from patients admitted to hospitals in Tehran, Iran by PCR. *BioMed Research*, 30(2): 1-5.
- Tang, M., Quanstrom, K., Jin, C. and Suskind, A. M. 2019. Recurrent urinary tract infections are associated with frailty in older adults. *Urology*, 123(1): 24-27.
- Tayebi, Z., Seyedjavadi, S. S., Goudarzi, M., Rahimi, M. K., Boromandi, S., Bostanabad, S. Z. and Mahdiyoun, M. 2014. Frequency and antibiotic resistance pattern in gram positive uropathogenes isolated from hospitalized patients with urinary tract infection in Tehran. *Journal of Genes, Microbes and Immunity*, 2014(2): 1-9.
- Tenover, F. C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American Journal of Medicine*, 119(6): 3-10.
- Terlizzi, M. E., Gribaudo, G. and Maffei, M. E. 2017. UroPathogenic *Escherichia coli* infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic and non-antibiotic antimicrobial strategies. *Frontiers in Microbiology*, 8(2): 1566-1574.
- Thomas-White, K., Forster, S. C., Kumar, N., Van Kuiken, M., Putonti, C., Stares, M. D. and Lawley, T. D. 2018. Culturing of female bladder bacteria reveals an interconnected urogenital microbiota. *Nature Communications*, 9(1): 1-7.
- Tille, P. 2015. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-E-Book*. Elsevier Health Sciences, 1136 page, Amsterdam.
- Toleman, M. A. and Walsh, T. R. 2011. Combinatorial events of insertion sequences and ICE in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(5): 912-935.
- Tsilidis, K. K., Helzlsouer, K. J., Smith, M. W., Grinberg, V., Hoffman-Bolton, J., Clipp, S. L. and Platz, E. A. 2009. Association of common polymorphisms in *IL10*, and in other genes related to inflammatory response and obesity with colorectal cancer. *Cancer Causes and Control*, 20(1): 1739-1751.
- Tyagi, P., Moon, C. H., Janicki, J., Kaufman, J., Chancellor, M., Yoshimura, N. and Chermansky, C. 2019. Recent advances in imaging and understanding interstitial cystitis. *F1000Research*, 7(7): 13-17.
- Ugbo, E. N., Anyamene, C. O., Moses, I. B., Iroha, I. R., Babalola, O. O., Ukpai, E. G. and Ugadu, I. O. 2020. Prevalence of *blaTEM*, *blaSHV*, and *blaCTX-M* genes

- among extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* of clinical origin. *Gene Reports*, 21(2): 100-109.
- Valkov, E., Stamp, A., DiMaio, F., Baker, D., Verstak, B., Roversi, P. and Kobe, B. 2011. Crystal structure of Toll-like receptor adaptor MAL/TIRAP reveals the molecular basis for signal transduction and disease protection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(36): 14879-14884.
- Varshney, D., Singh, S., Sinha, E., Mohanty, K. K., Kumar, S., Barik, S. K. and Katara, P. 2022. Systematic review and meta-analysis of human Toll-like receptors genetic polymorphisms for susceptibility to tuberculosis infection. *Cytokine*, 152(1): 1557-1591.
- Vasudeva, P. and Madersbacher, H. 2014. Factors implicated in pathogenesis of urinary tract infections in neurogenic bladders: some revered, few forgotten, others ignored. *Neurourology and Urodynamics*, 33(1): 95-100.
- Verma, S., Kalyan, R. K., Gupta, P., Khan, M. D. and Venkatesh, V. 2022. Molecular characterization of extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates and their antibiotic resistance profile in health care-associated urinary tract infections in North India. *Journal of Laboratory Physicians*, 15(2): 194-201.
- Vidya, M. K., Kumar, V. G., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G. and Bhatta, R. 2018. Toll-like receptors: significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals. *International Reviews of Immunology*, 37(1): 20-36.
- Wagenlehner, F., Nicolle, L., Bartoletti, R., Gales, A. C., Grigoryan, L., Huang, H. and Lee, S. J. 2022. A global perspective on improving patient care in uncomplicated urinary tract infection: expert consensus and practical guidance. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 28(1): 18-29.
- Walker, J. N., Flores-Mireles, A. L., Pinkner, C. L., Schreiber IV, H. L., Joens, M. S., Park, A. M. and Hultgren, S. J. 2017. Catheterization alters bladder ecology to potentiate *Staphylococcus aureus* infection of the urinary tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(41): 8721-8730.
- Wang, J., Yang, C., Liu, Z., Li, X., Liu, M., Wang, Y. and Sun, N. 2020. Association of the TLR4 gene with depressive symptoms and antidepressant efficacy in major depressive disorder. *Neuroscience Letters*, 736(1): 135-292.

- Wang, M., Li, L., Xiao, S., Chen, W., Hu, F., Li, F. and Tang, X. 2021. The association of TLR2, TLR3, and TLR9 gene polymorphisms with susceptibility to talaromycosis among han Chinese AIDS patients in Guangdong. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11(5): 625461.
- Wang, S., Jiang, K., Du, X., Lu, Y., Liao, L., He, Z. and He, W. 2021. Translational attenuation mechanism of ErmB induction by Erythromycin is dependent on two leader peptides. *Frontiers in Microbiology*, 12(1): 690-744.
- Wang, X. H., Ma, A. G., Han, X. X., Chen, L., Liang, H., Litifu, A. and Xue, F. 2017. Relationship between Toll-like receptor 4 and type-2 diabetes mellitus complicated by tuberculosis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 21(8): 910-915.
- Wang, Y., Song, E., Bai, B. and Vanhoutte, P. M. 2016. Toll-like receptors mediating vascular malfunction: Lessons from receptor subtypes. *Pharmacology and Therapeutics*, 158(6): 91-100.
- Wasmy Shahab, N., Ali, C. I. A. D. and Salih, S. M. 2017. Isolation and Identification of bacteria causing urinary tract infections in children in Kirkuk city. *Tikrit Journal of Pure Science*, 22(2): 8-12.
- Watson, J. R., Sánchez, P. J., Spencer, J. D., Cohen, D. M. and Hains, D. S. 2018. Urinary tract infection and antimicrobial stewardship in the emergency department. *Pediatric Emergency Care*, 34(2): 93-95.
- Weinstein, M. P. and Lewis, J. S. 2020. The clinical and laboratory standards institute subcommittee on antimicrobial susceptibility testing: background, organization, functions, and processes. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(3): 10-1128.
- WHO, World Health Organization. 2014. Antimicrobial resistance: Global report on surveillance. World Health Organization, 14(1): 1-2.
- Workowski, K. A. 2015. Centers for Disease Control and Prevention sexually transmitted diseases treatment guidelines. *Clinical Infectious Diseases*, 61(8): 759-762.
- Wu, W., Chen, Q., Geng, F., Tong, L., Yang, R., Yang, J. and Wei, Q. 2016. Calcineurin B stimulates cytokine production through a CD14-independent Toll-like receptor 4 pathway. *Immunology and Cell Biology*, 94(3): 285-292.
- Yang, H., Wei, C., Li, Q., Shou, T., Yang, Y., Xiao, C. and Zheng, B. 2013. Association of TLR4 gene non-missense single nucleotide polymorphisms with rheumatoid

- arthritis in Chinese Han population. *Rheumatology International*, 33(1): 1283-1288.
- Yang, Z., Liu, W., Wan, X., Liu, R. and Zhang, Y. 2022. Association of toll-like receptor 4 Rs7873784 G/C polymorphism with rheumatoid arthritis risk in a Chinese population. *Immunological Investigations*, 51(3): 660-669.
- Yin, X., Hou, T., Liu, Y., Chen, J., Yao, Z., Ma, C. and Wei, L. 2010. Association of Toll-like receptor 4 gene polymorphism and expression with urinary tract infection types in adults. *PLoS One*, 5(12): 142-223.
- Zagaglia, C., Ammendolia, M. G., Maurizi, L., Nicoletti, M. and Longhi, C. 2022. Urinary tract infections caused by uropathogenic *Escherichia coli* strains—New strategies for an old pathogen. *Microorganisms*, 10(7): 1425-1477.
- Zhang, Y. and Liang, C. 2016. Innate recognition of microbial-derived signals in immunity and inflammation. *Science China Life Sciences*, 59(8): 1210-1217.
- Zhao, F., Yang, H., Bi, D., Khaledi, A. and Qiao, M. 2020. A systematic review and meta-analysis of antibiotic resistance patterns, and the correlation between biofilm formation with virulence factors in uropathogenic *E. coli* isolated from urinary tract infections. *Microbial Pathogenesis*, 144(1): 104-196.
- Zhou, L., Wei, B., Xing, C., Xie, H., Yu, X., Wu, L. and Zheng, S. 2011. Polymorphism in 3'-untranslated region of toll-like receptor 4 gene is associated with protection from hepatitis B virus recurrence after liver transplantation. *Transplant Infectious Disease*, 13(3): 250-258.
- Zhou, Q., Tang, M., Zhang, X., Lu, J., Tang, X. and Gao, Y. 2022. Detection of AmpC β -lactamases in gram-negative bacteria. *Heliyon*, 8(12): 1-8.
- Ziakas, P. D., Prodromou, M. L., El Khoury, J., Zintzaras, E. and Mylonakis, E. 2013. The role of TLR4 896 A> G and 1196 C> T in susceptibility to infections: a review and meta-analysis of genetic association studies. *PloS One*, 8(11): e81047.
- Zmantar, T., Chaieb, K., Ben Abdallah, F., Ben Kahla-Nakbi, A., Ben Hassen, A., Mahdouani, K. and Bakhrouf, A. 2008. Multiplex PCR detection of the antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from auricular infections. *Folia Microbiologica*, 53(1): 357-362.
- Zorc, J. J., Kiddoo, D. A. and Shaw, K. N. 2005. Diagnosis and management of pediatric urinary tract infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(2): 417-422.

Zowawi, H. M., Harris, P. N., Roberts, M. J., Tambyah, P. A., Schembri, M. A., Pezzani, M. D. and Paterson, D. L. 2015. The emerging threat of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in urology. *Nature Reviews Urology*, 12(10): 570-584.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Akram Radhi Salim AL-ZEHERE

Eğitim

Doktora	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-2024
Yüksek Lisans	Dhiqar Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı	2017-2019
Lisans	Al-Muthanna Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2008-2012