



T.C.  
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

**İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE  
EDİLEN *Enterobacteriaceae*'lerde ANTİBİYOTİK  
DİRENÇ GENLERİNİN MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU**

**HUSAM MAHDİ SALEH ALSHABBANİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Kırşehir/ 2022**



T.C.  
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

**İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE  
EDİLEN *Enterobacteriaceae*'lerde ANTİBİYOTİK  
DİRENÇ GENLERİNİN MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU**

**HUSAM MAHDİ SALEH ALSHABBANİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr.Elif SEVİM**

**KIRŞEHİR / 2022**

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

HUSAM MAHDİ SALEH ALSHABBANİ

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi'nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



## ÖNSÖZ

Yüksek Lisansa başlamamda ve yüksek lisans ders sürecinde kendisini tanıdığım günden bu yana gösterdiği sakin ve sabırlı hali ile her zaman bana örnek olmasının yanı sıra bir bilim adamının nasıl çalışması gerektiğini kendisinden öğrendiğim değerli danışmanım Prof. Dr. Elif SEVİM'e büyük bir içtenlikle teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında gerek sorularıyla, gerekse laboratuvar imkanları ile yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ali SEVİM'e, başta Yüksek Lisans öğrencisi Ömer KARAKAMIŞ ve Yüksek Lisans öğrencisi M. Fatih KARASU olmak üzere laboratuvarda çalışan tüm arkadaşlarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Tezi yazma sürecimde yardımlarını esirgemeyen Yüksek Lisans öğrencisi Burak DEMİRKAYA'ya teşekkür ederim.

Tüm tez sürem boyunca destekleri ile yanımda olan aileme ve eşime teşekkür ederim.

Temmuz, 2022

HUSAM MAHDİ SALEH ALSHABBANİ

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

ÖNSÖZ .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
ŞEKİL LİSTESİ .....	vii
TABLO LİSTESİ .....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ÖZET .....	x
ABSTRACT.....	xii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1. Amaç .....	2
1.2. Önem.....	3
<b>2. GENEL KISIMLAR.....</b>	<b>4</b>
2.1. İdrar Yolu Enfeksiyonları .....	4
2.1.1. Bakteriyel İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkenleri.....	4
2.1.2. Bakteriyel İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkenlerinin Virülans Faktörleri.....	5
2.1.3. Bakteriyel İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Tedavisi.....	6
2.2. Antibiyotik Direnci .....	7
2.3. Direncin Orijini.....	8
2.3.1. Doğal Direnç .....	8
2.3.2. Kazanılmış Direnç.....	9
2.4. Antibiyotik Direncinin Mekanizması.....	9
2.4.1. İlaç Alınımının Sınırlandırılması.....	10
2.4.2. İlaç Hedefinin Modifiye Edilmesi .....	11
2.4.3. İlaç İnaktivasyonu/ Modifikasyonu .....	11
2.4.4. Aktif Pompa Sistemi (İlacın Dışarı Atılması) .....	11
2.5. Beta-Laktamazlar (β-Laktamazlar) .....	12
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>14</b>
3.1. Materyal .....	14
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Besiyerleri .....	14

3.1.2. Rekombinant ve Standart Suşlar .....	14
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar .....	14
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Primerler .....	15
3.1.5. <i>Enterobacteriaceae</i> İzolatları.....	15
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. İzolatların Moleküler Tanımlanması .....	16
3.2.1.1. 16S rRNA Gen Dizilerinin Elde Edilmesi.....	16
3.2.1.2. Veri Analizi .....	17
3.2.1.3. GenBank Kabul Numaraları .....	17
3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Fenotipik GSBL Tespiti.....	17
3.2.3. Çoklu Antibiyotik Direnç Fenotipi (MARP) ve Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi (MARI) .....	18
3.2.4. Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespit Edilmesi .....	18
3.2.4.1. Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL).....	18
3.2.4.2. Kinolon ve Aminoglikozid Direnç Genleri .....	19
3.2.4.3. Sınıf-1 ve Sınıf-2 İntegronların Varlığı.....	19
3.2.5. Direncin Aktarılabirliği .....	20
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>21</b>
4.1. <i>Enterobacteriaceae</i> İzolatlarının Tanımlanması.....	21
4.2. <i>Enterobacteriaceae</i> İzolatlarında Antibiyotik Direnç Profili.....	23
4.3. <i>Enterobacteriaceae</i> İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genleri .....	25
4.4. Sınıf-1 ve Sınıf-2 İntegronların Belirlenmesi .....	28
4.5. Aktarılabir Direnç Genlerinin Tespiti .....	28
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>30</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>38</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>46</b>
Ek 1. İzolatların 16S rRNA Gen Dizileri .....	46
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>59</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 2.1.</b> İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan patojenler .....	5
<b>Şekil 2.2.</b> Bakterilerde antibiyotik direnç mekanizmaları .....	10
<b>Şekil 2.3.</b> $\beta$ -laktam antibiyotiklerin yapısı .....	12
<b>Şekil 4.1.</b> Çift Diskli Sinerji Testi pozitif izolatların görüntüsü .....	25
<b>Şekil 4.2.</b> Amplifiye olmuş GSBL genlerinin agaroz jel görüntüsü .....	26
<b>Şekil 4.3.</b> Amplifiye olmuş kinolon direnç genlerinin agaroz jel görüntüsü .....	27



## TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa No
<b>Tablo 2.1.</b> Antibiyotiklerin yıllara göre keşfedilmesi.....	7
<b>Tablo 3.1.</b> Çalışmada kullanılan cihazlar.....	15
<b>Tablo 3.2.</b> Çalışmada kullanılan primerler.....	16
<b>Tablo 4.1.</b> Çoklu ilaç dirençli <i>Enterobacteriaceae</i> izolatı saptanan olguların demografik ve klinik özellikleri.....	21
<b>Tablo 4.2.</b> İzolatların yakın ilişkili olduğu bakteri türleri ile yüzde benzerlikleri .....	22
<b>Tablo 4.3.</b> Çoklu ilaç direncine sahip <i>Enterobacteriaceae</i> izolatlarının genotipik ve fenotipik özellikleri .....	24
<b>Tablo 4.4.</b> İzolatların antibiyotik direnç profilleri.....	25
<b>Tablo 4.5.</b> Çoklu ilaç dirençli <i>Enterobacteriaceae</i> izolatlarında direncin genotipik özellikleri .....	28
<b>Tablo 4.6.</b> <i>Proteus mirabilis</i> Pr17 izolatı ve transkonjugant <i>E. coli</i> J53-2 (pPr17) hücresinin genotipik ve fenotipik özelliklerinin karşılaştırılması.....	29

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>lt</b>	: Litre
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>U</b>	: Unit
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>gr</b>	: Gram
<b>mg</b>	: Miligram
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>M</b>	: Molar
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>µM</b>	: Mikromolar
<b>pmol</b>	: Pikomol
<b>Kb</b>	: Kilobaz çifti
<b>bp</b>	: Baz çifti
<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>sn</b>	: Saniye
<b>dk</b>	: Dakika
<b>%</b>	: Yüzde
<b>°C</b>	: Santigrad derece

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>vb.</b>	: ve benzeri
<b>dNTP</b>	: Deoksi Nükleotit Üç Fosfat
<b>Taq</b>	: <i>Thermus aquaticus</i>
<b>TAE</b>	: Tris- Asetik Asit- EDTA
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	: Magnezyum Klorür
<b>U.V</b>	: Ultra Viyole
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Change Reaction)
<b>NCBI</b>	: National Center for Biotechnology Information
<b>BLAST</b>	: Basic Local Aligment Search Tool
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>RNA</b>	: Ribo Nükleik Asit
<b>GSBL</b>	: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN *Enterobacteriaceae*'lerde ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

HUSAM MAHDİ SALEH ALSHABBANİ

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Elif SEVİM

Bu tez çalışmasında idrar yolu enfeksiyonlarına sebep olan klinik *Enterobacteriaceae* izolatlarında beta laktam ve kinolon antibiyotiklerine karşı direnç oluşumunu sağlayan genlerin belirlenmesi ve bu genlerin konjugatif plazmitler üzerinde aktarılabilirliğinin gösterilmesi amaçlandı. İdrar Yolu Enfeksiyonu şikayeti ile başvuran hastalardan alınan idrar örneklerinden kültür yöntemleri ile izole edilmiş ve Vitek-2 otomatize sistem ile tanımlanmış yetmiş Gram-negatif *Enterobacteriaceae* izolatı Eylül-Aralık 2018 tarihleri arasında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edildi. Gerçekleştirilen antibiyogram testleri sonucunda 13 *Enterobacteriaceae* izolatının çoklu ilaç direncine sahip olduğu tespit edildi ve bu izolatlar çalışmaya dahil edildi. İzolatların moleküler tanımlanması 16S rRNA gen dizileri kullanılarak gerçekleştirildi. Beta-laktam antibiyotiklerine direnç sağlayan plazmit aracılı  $\beta$ -laktamaz ( $bla_{TEM}$ ,  $bla_{SHV}$ ,  $bla_{CTX-M1}$ ,  $bla_{CTX-M2}$ ,  $bla_{OXA-1}$ ,  $bla_{PER-1}$ ) ve kinolon antibiyotiklerine direnç sağlayan plazmit aracılı kinolon direnç genleri ( $aac(6')-Ib-cr$ ,  $qnrA$ ,  $qnrB$ ,  $qnrS$ ) PCR yardımı ile belirlendi. Direnç genlerinin transfer edilebilirliğini belirlemek için konjugasyon deneyleri gerçekleştirildi.

Moleküler tanımlama sonucunda izolatlar *Proteus mirabilis* (Pr3, 6, 8, 9, 11 ve 17), *Citrobacter koseri* (Pr4 ve Pr5), *E. coli* (Pr10, 12 ve 13), *Proteus sp.* (Pr19) ve *Klebsiella pneumoniae* (Pr20) olarak tanımlandı. İzolatların tamamının çoklu ilaç direncine sahip olduğu tespit edildi. *Enterobacteriaceae* izolatlarının tümü (%100)  $\beta$ -laktam,  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitörü, kinolon ve sülfonamid grubu antibiyotikler olan ampisilin, sulbaktam/ampisilin, nalidiksik asit ve trimetoprim/sülfametoksazol antibiyotiklerine dirençli olduğu tespit edildi. İzolatlardaki plazmit aracılı direnç genlerinin varlığı incelendiğinde, izolatların tümünün (%100)  $bla_{CTX-M1}$  ve  $aac(6')-Ib-cr$  genleri bakımından pozitif olduğu tespit edildi. İzolatların %85'i  $bla_{TEM}$ , %38'i  $bla_{CTX-M2}$ , %8'i  $bla_{SHV}$  pozitif bulundu. Hiçbir izolatda  $bla_{OXA-1}$  ve  $bla_{PER-1}$  genleri tespit edilemedi. Konjugasyon deneyleri sonucunda, *Proteus mirabilis* Pr17 izolatının konjugatif bir plazmit içerdiği belirlendi. PCR çalışmaları göstermiştir;  $bla_{TEM}$ ,  $bla_{CTX-M1}$ ,  $qnrA$  ve  $aac(6')-Ib-cr$  direnç genleri ve Sınıf-1 integron gen kaset yapısının bu konjugatif plazmitte taşınmaktadır. Halk sağlığı açısından ilimizde moleküler yöntemler ile antibiyotik direncinin gösterilmesi, direnç mekanizmasının anlaşılması ve dirençli bakterilere karşı etkin korunma ve kontrol önlemlerinin geliştirilmesinde yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Temmuz 2022, 77 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *Enterobacteriaceae*, plazmit aracılı  $\beta$ -laktamazlar, plazmit aracılı kinolon direnci, konjugatif plazmit

## ABSTRACT

M.Sc. THESIS

### **Molecular Characterization of Antibiotic Resistance Genes in Enterobacteriaceae Isolated From Urinary Tract Infections (UTI)**

**HUSAM MAHDİ SALEH ALSHABBANİ**

**Kırşehir Ahi Evran University  
Graduate School of Sciences and Engineering  
Molecular Biology and Genetic Department**

**Supervisor: Prof. Dr. Elif SEVİM**

In this thesis, it was aimed to determine the genes that cause resistance to beta lactam and quinolone antibiotics in clinical *Enterobacteriaceae* isolates that cause urinary tract infections and to show the transferability of these genes on conjugative plasmids. Seventy Gram-negative *Enterobacteriaceae* isolates, which were identified with the Vitek-2 automated system and isolated by culture methods from the urine samples taken from the patients who applied with the complaint of Urinary Tract Infection, were obtained from the Medical Microbiology Laboratory of Kırşehir Ahi Evran University Training and Research Hospital between September and December 2018. As a result of antibiogram tests, 13 *Enterobacteriaceae* isolates were found to have multidrug resistance and these isolates were included in the study. Molecular identification of isolates was performed using 16S rRNA gene sequences. Plasmid-mediated  $\beta$ -lactamase (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M1</sub>, *bla*<sub>CTX-M2</sub>, *bla*<sub>OXA-1</sub>, *bla*<sub>PER-1</sub>) that provides resistance to beta-lactam antibiotics and plasmid-mediated quinolone resistance genes (*aac(6)-Ib-cr*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*) were determined by PCR. Conjugation experiments were performed to determine the transferability of resistance genes. As a result of molecular identification, the isolates were identified as *Proteus mirabilis* (Pr3, 6, 8, 9, 11 and 17), *Citrobacter koseri* (Pr4 and Pr5), *E. coli* (Pr10, 12 and 13), *Proteus* sp. (Pr19) and

*Klebsiella pneumoniae* (Pr20). All of the isolates were found to have multidrug resistance. All *Enterobacteriaceae* isolates were found to be resistant to ampicillin, sulbactam/ampicillin, nalidixic acid and trimethoprim/sulfamethoxazole antibiotics, which are  $\beta$ -lactam,  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor, quinolone and sulfonamide group antibiotics, respectively. When the presence of plasmid-mediated resistance genes was examined, it was determined that all of the isolates (100%) were positive for *bla*<sub>CTX-M1</sub> and *aac(6')-Ib-cr* genes. 85%, 38% and 8% of the isolates were positive for *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M2</sub> and *bla*<sub>SHV</sub> gene, respectively. The *bla*<sub>OXA-1</sub> and *bla*<sub>PER-1</sub> genes were not detected in the isolates. As a result of conjugation experiments, it was determined that *Proteus mirabilis* Pr17 isolate contained a conjugative plasmid. PCR studies have shown that; the resistance genes *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M1</sub>, *qnrA* and *aac(6')-Ib-cr* and the Class-1 integron gene cassette structure are carried in this conjugative plasmid. In terms of public health, it is thought that demonstrating antibiotic resistance with molecular methods in our province will help to understand the mechanism of resistance and to develop effective prevention and control measures against resistant bacteria.

July 2022, 77 Pages

**Keywords:** *Enterobacteriaceae*, plasmid-mediated  $\beta$ -lactamases, plasmid-mediated quinolone resistance, conjugative plasmid

## 1. GİRİŞ

Antibiyotiklere karşı bakterilerin geliştirdikleri Antimikrobiyal Direnç dünya çapında önemli bir sorundur. Sadece antimikrobiyal direnç değil, aynı zamanda belirli bakterilerde çoklu ilaç direncinin gelişmesi, önemli ve tehlikeli bir durumdur. Mevcut tedaviler başarılı olmazsa, bu bakterileri tedavi etmek için kullanılan sınırlı sayıda yeni antimikrobiyaller üretilmektedir. Antimikrobiyal direnç genleri plazmitler, transpozonlar ve integronlar aracılığı bir bakteriden diğerine aktarılabilirler (Aslam ve diğ., 2018).

Bakteriyel antibiyotik direnci, hastalıkların tedavisinde problemi dahada kötüleştirdiği için klinik bir endişe kaynağıdır. Özellikle hastane enfeksiyonlarında çoklu ilaca dirençli bakteriler ile savaşmak için yeni ilaçlara kolayca erişilemediği için artan bir endişe sebebidir. Gram negatif çoklu ilaç dirençli hastane patojenlerinin neden olduğu enfeksiyonların morbidite ve ölüm oranları yüksektir (Vyankatesh ve diğ., 2018).

*Enterobacteriaceae* ailesinde insanda enfeksiyon etkeni olarak sıklıkla izole edilen birçok bakteri türü yer almaktadır (Bilgehan, 2000). Bu ailede yer alan mikroorganizmaların, insanda septisemi, menenjit, cerrahi yara enfeksiyonları, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları gibi hemen her doku ve organı tutan enfeksiyonların büyük bir kısmından sorumlu olduğu bildirilmiştir. *Enterobacteriaceae* ailesindeki önemli cinsler: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Yersinia*, *Morganella*, *Serratia* ve *Providencia* olarak sıralanmaktadır (Pitout ve Loupland, 2008).

Hastane kökenli klinik örneklerden en sık izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *Proteus* cinsi bakterilerdir. *E. coli*, *Escherichia* cinsinin en önemli ve en sık görülen türüdür. Sepsiste en sık izole edilen Gram negatif bakteridir. Toplum ve hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonunun etkenidir (Doyle ve Schoeni, 1984).

*K. pneumoniae*, insan sağlığı açısından çok önemli olan nozokomiyal, üst solunum yolu, üriner sistem ve yara enfeksiyonlarının oluşmasında rol alan fırsatçı bir patojendir (Bilgehan, 2000). *K. pneumoniae* üriner sistem ve nozokomiyal enfeksiyonlara yaygın olarak neden olan bakteriler sıralamasında *E. coli* 'den sonra ikinci sıradadır (Aladağ ve Durak, 2007). *K.*

*pneumoniae* insan kalın barsağında ve üst solunum yollarının normal florasında %5-10 oranında bulunmaktadır. Üst solunum yolu ve dışkı florasında bulunabilen *K. pneumoniae* bakterileri, buldukları yerde uygun koşulların oluşması veya yerlerini değiştirerek diğer organ ve sistemlere yerleşmeleri halinde birçok hastalıklara neden olurlar (Jacoby ve diğ., 1997).

*Proteus* cinsindeki bakteriler ise genel olarak insan barsak florasında, lağım sularında, kokmuş organik maddelerde ve kirli sularda bulunurlar. *Proteus* cinsi bakteriler özellikle üriner sistem enfeksiyonları başta olmak üzere yara yeri enfeksiyonları, organ apseleri, pnömoni ve septisemi olgularından sıklıkla izole edilirler (Koneman ve diğ., 2006).

*Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan bakteriler arasında beta-laktamlar, kinolonlar, karbapenemler ve aminoglikozidlere direncin hızlı yayılımı, enfeksiyon hastalıklarında önemli bir problemdir (Sanders ve Sanders, 1992). Antibiyotiklerin kontrolsüz ve yanlış kullanımı; direnç oranları, tedavi maliyeti ve tedavi başarısızlığında çok ciddi artışlara neden olmuştur (Llor ve Bjerrum, 2005; Allerberger ve diğ., 2009). Özellikle dirençli gram-negatif enterik bakteriler, son yıllarda sadece hastane kaynaklı değil, toplum kaynaklı enfeksiyonlarda da bir sorundur. Özellikle direnç genlerinin plazmitler ile aktarılabilir olması ve bu plazmitler üzerinde çok sayıda antibiyotik direnç geninin bir arada bulunabilmesi, direncin hızla yayılması yanında, birçok antibiyotiğin de klinik kullanımdan kaldırılmasına neden olmuştur (Gür ve Ünal, 2001).

### **1.1. Amaç**

Tüm Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de dirençli *Enterobacteriaceae* sıklığında artış görülmekte olup, bu artış klinikte oldukça büyük bir problem oluşturmaktadır. *Enterobacteriaceae* türlerinde bulunan beta-laktamaz enzimi beta-laktam antibiyotiklerini hidrolize ederek birçok antibiyotiğe karşı dirence sebep olmaktadır. Özellikle genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz (GSBL) üreten bu mikroorganizmalar hayatı tehdit edici enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların büyük çoğunluğunu sepsis, üriner sistem, solunum yolu enfeksiyonları olmak üzere, intraabdominal enfeksiyonlar, yara yeri enfeksiyonları ve menenjit oluşturmaktadır. Dirençli hale gelen bakterilerin oluşturdukları enfeksiyonlar uzun sürmekte ve daha fazla bireye bulaşabilmektedir. Antibiyotik direnci,



özellikle hatalı antibiyotik kullanımının sonucu olarak artan mutasyonlar veya dışardan alınan direnç genleriyle oluşmaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı; Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesinde, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterobacteriace* üyelerindeki beta laktam ve kinolon grubu antibiyotiklerine karşı direnç gelişimini sağlayan genlerin tespiti, bu genlerin konjugatif plazmitler üzerinde olup olmadığının belirlenmesidir.

## 1.2. Önem

Antibiyotik direnci hastanede yatış ve tedavi süresini uzatan, prognozu olumsuz yönde etkileyen ve sağlık harcamalarında ciddi artışa neden olan önemli bir problemdir. Direncin hızlı ve doğru biçimde saptanması dirençli bakterilerin toplum ve hastane ortamında yayılımının engellenmesi bakımından önemlidir. Moleküler yöntemler antibiyotik direncinin gösterilmesi, direnç mekanizmasının anlaşılması ve dirençli bakterilere karşı etkin korunma ve kontrol önlemlerinin geliştirilmesi aşamalarında önemli katkılar sağlamaktadır.

Antibiyotik direnç genlerinin moniterizasyonu hastane (nozokomiyal) ve toplum kaynaklı enfeksiyonların yayılımı hakkında oldukça net bilgiler vermektedir. Yapılacak çalışma sonucunda hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonlarda direnç genlerinin yayılım mekanizması aydınlatılmış olacağından, direnç genlerinin yayılımının engellenmesi konusunda yeni fikirler geliştirilebilecektir. Aynı zamanda bu veriler hekimlerin antibiyotik reçeteleme ve hastayı bilgilendirme aşamalarında da yardımcı olacaktır. Bu yeni fikirler doğrultusunda büyük sorun olarak görülen toplum kaynaklı direnç genlerinin artışının önüne geçebilecek stratejilerin oluşturulması sağlanabilecektir.

## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. İdrar Yolu Enfeksiyonları

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), her yıl dünya çapında 150 milyon insanı etkileyen en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan bazılarıdır. İYE, idrar yolu sisteminin böbrekler, mesane ve üretra gibi farklı organlarını etkileyebilir. Klinik olarak, İYE'leri komplike olmayan veya komplike olarak kategorize edilirler. Komplike olmayan İYE'ler tipik olarak sağlıklı olan ve yapısal veya nörolojik üriner sistem anormallikleri olmayan bireyleri etkiler; bu enfeksiyonlar alt İYE (sistit) ve üst İYE (piyelonefrit) olarak ayrılır. Kadın cinsiyeti, geçirilmiş bir İYE, cinsel aktivite, vajinal enfeksiyon, diyabet, obezite ve genetik yatkınlık gibi birkaç risk faktörü sistit ile ilişkilidir. Komplike İYE'leri ise yapısal ve nörolojik üriner sistem bozukluklarının ve immun sistemi bozacak altta yatan bir hastalığa bağlı olarak gelişen enfeksiyonlardır. Böbrek yetmezliği, böbrek transplantasyonu, tümörler, kalıcı veya aralıklı kateter uygulaması gibi bozukluklar komplike İYE'lerine örnek verilebilir (Flores-Mireles ve diğ., 2015).

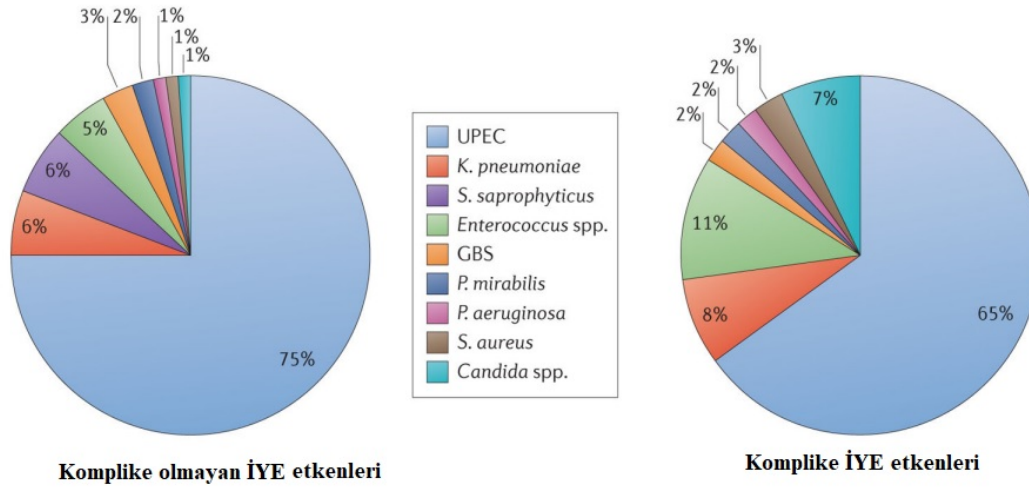
İdrar yolu enfeksiyonu insidansı bayanlarda erkeklere göre daha fazladır. Sağlıklı bayanların %35'i hayatlarının bazı evrelerinde İYE semptomları ile karşılaşmıştır. Her yıl kadınların yaklaşık % 5'i ağrılı idrar yapma sorunu çekmektedir (Dhanalakshmi ve Selvi, 2013).

Hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilerin yanı sıra bazı mantarlar türleride İYE neden olurlar. İYE'lerinin en sık görülen etkeni üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC) 'dir. Bunun yanısıra, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, B Grubu Streptokok (GBS), *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida* spp. gibi ajanlarda İYE da yaygın olarak izlenir (Okojie ve Omorokpe, 2018).

#### 2.1.1. Bakteriyel İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkenleri

İdrar ve idrar yolları normalde steril ortamlardır ve bakteri, virüs ve mantar içermezler. Küçük organizmalar, genellikle sindirim sisteminden gelen bakteriler üretranın açıklığına yapışıp çoğalmaya başladığında idrar yolu enfeksiyonları oluşur. İdrar yolu enfeksiyonlarına neden

olan bakterileri başlıca iki grup altında sınıflandırabiliriz. Birinci grup olan Gram-negatif enterik bakteriler grubu idrar yolu enfeksiyonlarında en sık rastlanan mikroorganizmalardır. Hem komplike olmayan hem de komplike idrar yolu enfeksiyonuna neden olan en önemli bakteri üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC)'dir. Enterik bakteri grubunda yer alan *Klebsiella* sp., *Proteus* sp, *Enterobacter* ve *Pseudomonas* sp. gibi bakteriler İYE'ında sıklıkla izole edilen diğer mikroorganizmalardır (Şekil 2.1). Gerek komplike, gerekse komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonlarında neredeyse aynı etkenler rol oynamakla beraber komplike olmayan İYE'arında UPEC'yi prevelansta *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, grup B Streptococcus (GBS), *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida* spp. takip etmektedir. Komplike İYE'ları içinse UPEC'den sonra *Enterococcus* spp., *K. pneumoniae*, *Candida* spp., *S. aureus*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* ve Grup B Streptokokuslar (GBS) gelmektedir (Svanborg ve Godaly, 1997; Komala ve Kumar, 2013; Flores-Mireles ve diğ., 2015).



Şekil 2.1. İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan patojenler (Flores-Mireles ve diğ., 2015).

### 2.1.2. Bakteriye İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkenlerinin Virülans Faktörleri

İdrar yolu enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmaların birçok virülans faktörüne sahip oldukları literatürlerde belirtilmiştir. Bu faktörlere yapışma faktörleri (P, tip-1, S, Dr fibria), toksinler (LPS, hemolizin) ve aerobaktinler örnek olarak verilebilir. İdrar yolu enfeksiyonu patogenezinde yapışma en önemli ve ilk olaydır. İYE periüretal kontaminasyon ile başlar, mikroorganizmalar üretraya kolonize olurlar ve daha sonra mesaneye göç ederler. Yapışma

olayının gerçekleşebilmesi için mikroorganizmaların pili ve flajella gibi yapılara sahip olması gerekmektedir. Gram negatif bakterilerde bulunan lipopolisakkarit yapının (LPS) lipit A kısmı toksik, inflamatojenik ve immünomodülatör özelliklere sahiptir. LPS, CD-14 reseptörünü taşıyan belirli konakçı hücrelere bağlanır ve bir enflamatuvar yanıt ortaya çıkarır. Ayrıca üropatojenik *E. coli* konukçu hücre zarında kolestrol açısından zengin domainlere bağlanabilen  $\alpha$ -hemolizin proteinini yüksek konsantrasyonda salgılar. Bu, hücrelerde gözenek oluşumuna neden olur ve hücrelerin bakteriler tarafından demir ve besin alımını kolaylaştıran lizisini geliştirir. Diğer bir virülans faktörü ise aerobaktin proteindir. *E. coli*'nin aerobik metabolizma ve çoğalma olaylarını gerçekleştirebilmesi için demire gereksinim duyar. Serbest demir için rekabet edebilme özelliği üriner sistemin dışındaki birçok enfeksiyon modelinde önemli bir virülans faktörü olarak tanımlanmıştır. *E. coli*'de iki adet demir alımı mekanizması tespit edilmiştir: biri hidroksamat tipi siderofor olan aerobaktin proteini diğeri ise katekol tipi siderofor olan enterokelin proteindir. Demir bağlamının kantitatif katkısı ya da bu maddenin aktif olduğu patogenetik süreçteki evre belirlenmemiştir. Fakat idrar yolu enfeksiyonuna sahip hastalardan alınan izolatlarda artmış aerobaktin üretimi gözlenmiştir (Svanborg ve Godaly, 1997; Flores-Mireles ve diğ., 2015).

### 2.1.3. Bakteriye İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Tedavisi

Günümüzde İYE özellikle gelişmiş ülkelerde artması nedeniyle değil, aynı zamanda etken patojenlerin rutinde kullanılan birçok antibiyotiğe karşı çoklu ilaç direnci geliştirdiklerinden dolayı gerçek bir problem teşkil etmektedirler. Antibiyotiklere karşı direnç, İYE etkeni *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia* ve *Pseudomona* dahil olmak üzere birçok bakteride tespit edilmiştir (Zenati ve diğ., 2014). İdrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde birçok antibiyotik kullanılmaktadır. En sık tercih edilen antibiyotikler kinolonlar, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar, trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SMZ), nitrofurantoin, fosfomisin, ikinci ve üçüncü kuşak oral sefalosporinlerdir.

*Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri hem toplum hem de hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE'ler) en sık nedenidir. İYE'lerinin tedavisinde ampirik antibiyotik seçimi, çoklu ilaca dirençli *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarındaki artıştan dolayı daha da zorlaşmıştır. İYE ampirik antibiyotik tedavisinin seçimi bu nedenle sıklıkla *Enterobacteriaceae*'nin duyarlılık profillerine bağlıdır (Khawcharoenporn ve diğ., 2013). Bir

antibiyotiğe karşı direnç oranı % 20'yi geçtiği zaman o antibiyotik ampirik olarak kullanılmamalıdır. Ampirik tedavide kullanacağımız antibiyotikleri seçerken ülkemizde hatta bölgemizde direnç oranlarını iyi bilmemiz gereklidir (Taşbakan, 2014).

## 2.2. Antibiyotik Direnci

Antibiyotikler mikroorganizmaların büyümesini durduran ya da öldüren biyolojik kaynaklı ya da sentetik olarak elde edilen çok etkili biyoaktif maddelerdir (Saygı ve diğ., 2012). Penisilin 1928 yılında Sir Alexander Fleming tarafından keşfedilen ilk antibiyotiktir. Bu keşif büyük bir çığır açmış ve penisilin keşfinden sonra antibiyotik keşifleri hızlanmıştır. Bir çok mantar ve bakteriden üretilen antibiyotikler keşfedilmiştir (Tablo 2.1) (Aktuğlu, 1997; Türkoğlu, 2008).

**Tablo 2.1.** Antibiyotiklerin yıllara göre keşfedilmesi.

Yıllar	Keşfedilen Antibiyotikler
1930	Penisilin, Sülfonamit, Gramisidin
1940	Streptomisin, Basitrasin, Sefalosporinler, Kloramfenikol, Klorotetrasiklin
1950	Eritromisin, Vankomisin, Kanamisin
1960	Nalidiksik asit, Gentamisin, Klindamisin
1970-80	Tobramisin, Sephamisin, Minosiklin, Florokinolonlar
2000	Streptogramin, Daptomisin

İnsanlık tarihinin en önemli buluşlarından olan antibiyotikler, başta uygunsuz ve gereksiz kullanımları sonucu gelişen direnç nedeniyle önemli oranda etkilerini kaybetmişlerdir. Antimikrobik maddelere karşı gelişen direnç günümüzde bütün insanlığı tehdit edecek düzeyde çok önemli bir sorundur (Öztürk, 2008). Birçok faktör bakterilerde antibiyotik direncine neden olabilir. Bunlardan en önemlisi bilinçsiz antibiyotik kullanımınıdır. Biliçli antibiyotik kullanımı, bulaşıcı hastalıkların kontrol altına alınmasına ve ölümlerin azaltılmasına yardımcı olur. Ancak biliçsiz ve yetersiz antibiyotik kullanımı önemli sorunlardandır. Birinci basamak sağlık hizmetlerinde, antibiyotiklerin, özellikle geniş spektrumlu antibiyotiklerin aşırı kullanımı, ilaçların etkinliğinin azalmasına, dirençli bakterilerin popülasyon prevalansının artmasına ve yeni enfeksiyonların ortaya çıkmasına büyük ölçüde katkıda bulunur. (Choi ve diğ., 2012).

Günümüzde bakteriler arasındaki antimikrobiyal direnç, küresel bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Antimikrobiyal dirençli bakterilerin gelişmesini ve yayılmasını önlemek için önemli müdahalelere rağmen, oranlar hızla artmaya devam etmektedir. Antibiyotik direncinden

etkilenen coğrafi alanların sayısı hızla artmakta ve bununla birlikte antibiyotik direncinin ekonomik etkileri de hızla büyümektedir. Antimikrobiyal dirençli bakteri enfeksiyonları, antimikrobiyal duyarlı bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlardan çok daha yüksek ölüm oranları, daha uzun hastanede kalma süreleri ve daha yüksek sağlık harcamaları ile ilişkilendirilmiştir (D'Agata ve diğ., 2008).

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir. Direnç gelişimi ve yayılımı genellikle gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlanmakla birlikte, 1940'lı yıllarda antibiyotiklerin kullanılmadığı bazı adalarda toprak ve dışkı örneklerinde tetrasiklin ve streptomisine dirençli bakteriler bulunduğu; antibiyotik direncinin yalnızca yaygın antibiyotik kullanımı sonucu değil, bakterilerin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı savunma sürecinin bir parçası olduğu da belirtilmektedir. Ancak antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanıma girmesi ile birlikte yıllar içinde çoğul dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmış ve bunlarla oluşan enfeksiyonların sağaltımında büyük sorunlar yaşanmaya başlanmıştır. Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte iken, öte yandan bunlara süratle direnç kazanan mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar bildirilmekte ve sorunun boyutları giderek büyümektedir (Yüce, 2001).

### **2.3. Direncin Orijini**

Bir grup veya tür olarak bakteriler, herhangi bir belirli antimikrobiyal maddeye karşı mutlaka tek tip duyarlı veya dirençli değildir. Direnç seviyeleri, ilgili bakteri grupları içinde büyük ölçüde değişebilir. Duyarlılık ve direnç genellikle minimum inhibitör konsantrasyonun (MIC), bakterilerin büyümesini önleyecek minimum ilaç konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak ölçülür. Duyarlılık aslında aynı bakteri türlerine karşı verilen herhangi bir ilaç için ortalama MIC'lerin bir aralığıdır. Bir tür için bu ortalama MIC, aralığın dirençli kısmındaysa, türün o ilaca karşı doğal dirence sahip olduğu kabul edilir. Bakteriler ayrıca diğer ilgili organizmalardan direnç genleri alabilir ve direnç seviyesi türlere ve edinilen genlere bağlı olarak değişir (Martinez, 2014).

#### **2.3.1. Doğal Direnç**

Bakterilerin yapısal özellikleri bu tür bir dirence sebep olur. Bakterilerin ilacın hedefi olan yapıyı taşınamaları veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşamamasının bir

sonucu olarak ortaya çıkar. Örneğin Gram-negatif bakteriler vankomisini dış zardan geçirmezler, dolayısıyla Gram-negatif bakteriler doğal olarak vankomisine dirençlidir. Benzer şekilde, L-formu bakterilerin hücre duvarı olmayan formlarıdır. Mycoplasma ve Ureaplasma gibi hücre duvarına sahip olmayan bakteriler beta-laktam antibiyotiklere karşı dirençlidir (Tenover, 1996).

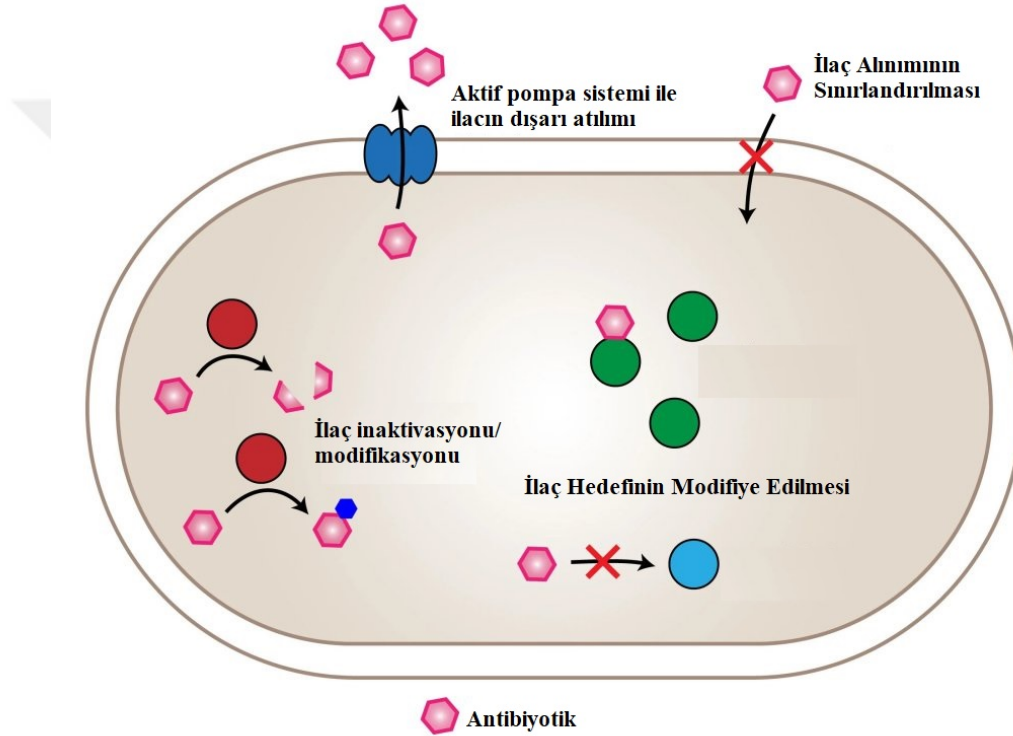
### **2.3.2. Kazanılmış Direnç**

Kazanılmış direnç, direnç sağlayan genetik materyallerin transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyon (tümü yatay gen transferi olarak adlandırılır) aracılığı ile edinilmesi veya bakterilerin kendi kromozomal DNA'larında mutasyonlar oluşturulması ile sağlanır. Kazanım geçici veya kalıcı olabilir. Direnç genlerinin plazmit aracılı edinimi, dış genetik materyalin elde edilmesi için en yaygın yoldur; bakteriyofaj kaynaklı edinim oldukça nadirdir. Açlık, UV, radyasyon ve kimyasallar bakteriler üzerinde strese sebep olur. Bu stres genetik mutasyonların (yer değiştirme, delesyon) yaygın sebebidir. Antimikrobiyal dirence yardımcı olan mutasyonlar genellikle sadece birkaç gen tipinde meydana gelir. Bunlar ilaç hedef proteinlerini kodlayan, ilaç transporter proteinlerini kodlayan, ilaç transporter proteinlerinin regülatörlerini kodlayan ve antibiyotik-modifiye edici enzimleri kodlayan genlerdir. Ek olarak, antimikrobiyal direnç kazandıran birçok mutasyon, bunu organizma için bir maliyetle yapar. Örneğin, *Staphylococcus aureus*'ta metisilin direncinin kazanılmasında bakterinin büyüme hızı önemli ölçüde azalır. Antimikrobiyal direncin büyük bilmececi, ilaç kullanımının direncin artmasına yol açmasıdır. Düşük veya çok düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyallerin kullanılması bile, ardışık bakteri nesillerinde yüksek düzeyde direnç seçimine yol açabilir, mutasyon oranını ve diğer antimikrobiyal ajanlara direnç kazanma yeteneğini artırabilir ve mobil genetik elementlerin hareketini teşvik edebilir (Reygaert, 2018).

### **2.4. Antibiyotik Direncinin Mekanizması**

Antimikrobiyal direnç mekanizmaları dört ana kategoriye ayrılır: (1) İlaç alınımının sınırlandırılması; (2) İlaç hedefinin modifiye edilmesi; (3) İlaç inaktivasyonu/modifikasyonu; (4) Aktif pompa sisteminin aktivasyonu (İlacın dışarı atılması) (Şekil 2.2). Doğal direnç, ilaç alınımının sınırlandırılması, ilaç inaktivasyonu ve efflux-pompa sisteminin aktivasyonu mekanizmalarını; kazanılmış direnç ilaç hedefinin modifiye edilmesi, ilaç inaktivasyonu ve

efflux-pompa sisteminin aktivasyonu mekanizmalarını kullanabilir. Yapıdaki farklılıklar nedeniyle, Gram-pozitif bakteriler ile karşılaştırıldığında Gram-negatif bakteriler tarafından kullanılan mekanizma türlerinde farklılıklar vardır. Gram-negatif bakteriler dört ana mekanizmanın hepsinden yararlanırken, Gram-pozitif bakterilerde ilaç alımının sınırlandırılması daha az yaygındır (LPS dış zarına sahip değildir) ve belirli ilaç efflux-pompa sistemleri için kapasiteye sahip değildirler (Mahon ve diğ., 2014).



Şekil 2.2. Bakterilerde antibiyotik direnç mekanizmaları (URL-1).

#### 2.4.1. İlaç Alımının Sınırlandırılması

Antimikrobiyal bileşikler etki edecekleri hedef bölgelerine ulaşmak için neredeyse her zaman bakteri hücrelerine erişimleri gereklidir. Antimikrobiyal ajanların hücre içine alınımında bakteriyel doğal yapılardan dolayı fark vardır. Lipopolisakkarit tabakasının Gram-negatif bakterilerdeki yapısı ve işlevleri, belirli türdeki moleküllere karşı bir bariyer sağlar. Bu durum, antimikrobiyal ajan gruplarına karşı Gram-negatif bakterilere doğal direnç verir. Gram-pozitif bakterilerin bir dış zarı yoktur ve ilaç erişimini kısıtlamak o kadar yaygın değildir. Gram-negatif bakterilerdeki porin kanalları genellikle hidrofilik moleküllere erişime izin verir. Porin değişikliklerinin ilaç alımını sınırlayabileceği iki ana yol vardır: mevcut porin



sayısında azalma ve porin kanalının seçiciliğini değiştiren mutasyonlar. *Enterobacteriaceae* üyelerinin porin sayısını azaltması (ve bazen belirli porinlerin üretimini tamamen durdurması) nedeniyle dirençli hale geldiği bilinmektedir. Bu mekanizma karbapenemlere karşı *Pseudomonas aeruginosa*'da ( $\beta$ -laktam antibiyotikler), aminoglikozitlere ve kinolonlara karşı birçok Gram-negatif bakteride tanımlanmıştır (Reygaert, 2018).

#### **2.4.2. İlaç Hedefinin Modifiye Edilmesi**

Bakteri hücrelerinde antimikrobiyal ajanların hedefi olabilecek birden fazla bileşen vardır ve bu ilaçlara direnç sağlamak için bakteriler tarafından değiştirilebilecek pek çok hedef vardır. Hedef bölge değişiklikleri genellikle kromozomlar üzerindeki genlerde meydana gelen mutasyonlardan ve antimikrobiyal ilaç varlığında yoğun baskıdan kaynaklanır. Hedef yapısındaki değişiklikler  $\beta$ -laktam, kinolon, glikopeptid, makrolid, tetrasiklin ve rifampisine karşı direnç gelişiminde önemlidir (Beceiro ve diğ., 2013).

#### **2.4.3. İlaç İnaktivasyonu/Modifikasyonu**

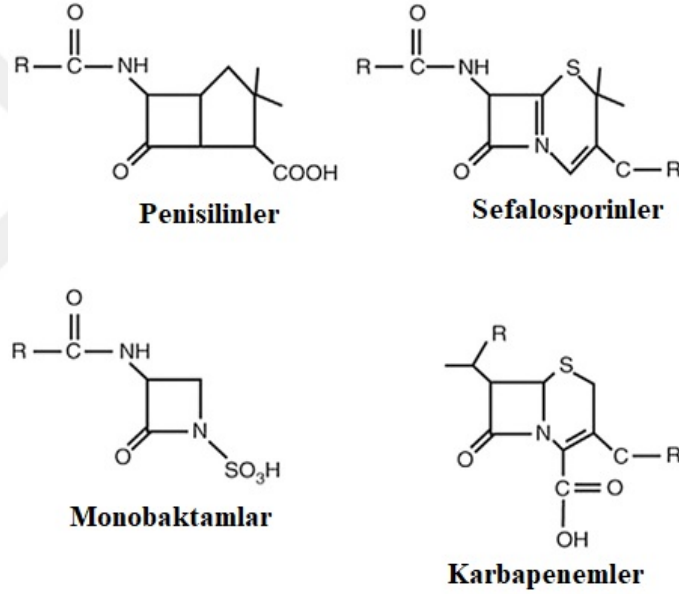
Antibiyotiklerin inaktivasyonu hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerde görülür. Bakteri enzimleri antibiyotiklerin belirli bir bölgesine asetil, adenil veya fosfat grupları ekler ve onları kimyasal olarak değiştirip modifiye eder. Kimyasal olarak değişen antimikrobiyal ajanlar hedef bölgeye bağlanamaz hale gelir. Örneğin, makrolidlerde fosforilasyon meydana gelirken, aminoglikozitlerde asetilasyon/ adenilasyon veya fosforilasyon meydana gelir. Ayrıca bakteriyel enzimler antibiyotiklere doğrudan bağlanır ve antibiyotikleri (penisilinlere karşı  $\beta$ -laktamazlar ve sefalosporinler gibi) parçalayarak inaktive eder (Abushaheen ve diğ., 2020).

#### **2.4.4. Aktif Pompa Sistemi (İlacın Dışarı Atılması)**

Çoğu bakteri birçok farklı tipte aktif pompa sistemine ve aktif pompa sistemi için kromozomal olarak kodlanmış genlere sahiptir. Bazıları yapısal olarak ifade edilir ve diğerleri belirli çevresel uyarılar altında veya uygun bir substrat mevcut olduğunda indüklenir veya aşırı ifade edilir Normalde aktif pompa sistemi proteinleri toksik maddelerin hücre dışına atılımında, besinlerin ve iyonların hücreye alınımında görev yaparlar. Aktif pompa sistemleri kinolonlar, makrolidler, azalid ve streptograminler, kloramfenikol ve  $\beta$ -laktamlara dirençte de etkilidir ve pek çok bakteride bulunur (Yüce, 2001; Kayış, 2019).

## 2.5. Beta-laktamazlar ( $\beta$ -Laktamazlar)

$\beta$ -laktam antibiyotikler, çeşitli Gram-negatif ve Gram-pozitif enfeksiyonların tedavisinde kullanılan, bakterisidal aktiviteleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde alerjisi olan hastalar dışında en popüler antibakteriyel ajanlardır. Bu ajanlar, dünya antibiyotik pazarının  $>65$ 'ini temsil etmektedir. Beta-laktam antibiyotikler, ortak olarak beta-laktam halkası adı verilen temel bir yapıyı paylaşırlar.  $\beta$ -laktam halkası antibakteriyel etkinlikten sorumludur.  $\beta$ -laktam antibiyotikler penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar,  $\beta$ -laktam+ $\beta$ -laktamaz inhibitörleri olmak üzere 5 grupta incelenirler (Şekil 2.3) (Poole, 2004; Balsalobre ve diğ., 2019).



Şekil 2.3.  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin yapısı (Poole, 2004).

$\beta$ -laktam ilaçlara direnç tüm genel mekanizmalar yoluyla meydana gelir fakat bakterilerin  $\beta$ -laktam ilaçlara karşı kullandığı en yaygın direnç mekanizması sentezledikleri  $\beta$ -laktamaz enzimleri tarafından antibiyotiklerin hidrolizidir.  $\beta$ -laktamazlar beta-laktam halkasının amid bağı hidroliz ederek halkanın açılmasına neden olurlar ve  $\beta$ -laktam ilaçlarını etkisiz hale getirirler.  $\beta$ -laktamaz üretimi, Gram-negatif bakterilerin  $\beta$ -laktam ilaçlara karşı kullandığı en yaygın mekanizmadır. Penisilin ve sefalosporin ilaçlarına karşı en önemli direnç mekanizmasıdır (Bush ve Jacoby, 2010; Reygaert, 2018).

Bunun yanısıra bakteriler  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin hedefi olan Penisilin Bağlayan Proteinlerde (PBP) modifikasyon meydana getirerek ilacın bağlanmasını engelleyebilirler.

İkinci olarak  $\beta$ -laktam ilaçlarını efflux pompaları ile hücre dışına çıkarırlar. İlaç alınımının sınırlandırılması da  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı geliştirilen bir diğer direnç mekanizmasıdır (Kumar ve Schweizer, 2005).

Beta-laktamaz enzimleri, bakteri kromozomunda bulunabilir. Aynı zamanda plazmit ve transpozonlar yoluyla da edinilebilir. *Enterobacteriaceae* ailesinin üyesi birçok gram negatif bakteri kromozomal  $\beta$ -laktamaz genlerine sahiptir. Plazmitle taşınan  $\beta$ -laktamaz genleri en yaygın olarak *Enterobacteriaceae*'de bulunur, ancak *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* gibi bazı gram pozitif bakteri türlerinde de bulunabilir (Schultsz ve Geerlings, 2012).

İlk  $\beta$ -laktamaz enzimi *E. coli*'de karakterize edildi. Bu enzim *ampC* geni tarafından kromozomal olarak kodlanır. Bu gen, yapısal olarak düşük bir seviyede ifade edilir, ancak mutasyonlar, genin aşırı ekspresyonu ile sonuçlanabilir. AmpC  $\beta$ -laktamazlar en çok penisilinlere ve bazı birinci kuşak sefalosporinlere karşı etkilidir. Ayrıca çeşitli *bla* genleri ( $\beta$ -laktamaz genleri) taşıyan birçok plazmit kaynaklı  $\beta$ -laktamaz vardır. Bu  $\beta$ -laktamazlar ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç sağlıyorsa, Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) olarak adlandırılırlar. Plazmit aracılı GSBL, TEM, SHV, CTX-M ve OXA enzim ailelerinin üyelerini içerir. Bu enzimler içerisinde en geniş grup, yaygın olarak *E. coli*'de, özellikle de İYE izolatlarında bulunan CTX-M'lerdir. GSBL üreticileri aynı zamanda birden fazla ilaç sınıfına dirençli olabilir, ancak genellikle  $\beta$ -laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır (Reygaert, 2018).

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Besiyerleri**

Çalışmada farklı firmalardan temin edilen birçok besiyerleri ve kimyasal madde kullanıldı. Çalışmada kullanılan besiyerlerinden EMB (Eosine Methylen Blue) Agar, Mueller Hinton Agar (MHA), Mueller Hinton Broth (MHB), Bakteriyojik Agar, Luria-Bertani Broth ve Agar (LB) Merck (Almanya) firmasından temin edildi. Moleküler çalışmalarda kullanılan Taq DNA polymerase (recombinant, 5U/µl), dNTPmix (10 mM), 50X TAE Buffer, DNA Gel Loading Dye (6X) ve Etidyum bromür Solüsyonu (10 mg/ml) ThermoFisher Scientific (USA) firmasından, Taq DNA Polymerase Master Mix RED (2X) enzimi Ampliqon (Denmark) firmasından, Agarose CondaLab (İspanya), 100 bp DNA ladder TransGen Biotechnology (Çin) firmasından temin edildi. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri Bioanalyses (Türkiye) firmasından temin edildi. Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar; sodyum klorür (NaCl), di-sodyum hidrojen fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), amonyum klorür (NH<sub>4</sub>Cl), D(+) glukoz monohidrat ve ampicillin sodium salt Merck (Almanya) firmasından temin edildi. Konjugasyon çalışmalarında kullanılan rifampisin Sanofi firmasından temin edildi.

##### **3.1.2. Rekombinant ve Standart Suşlar**

Çalışmada, rifampisin dirençli *E. coli* J53-2 suşu (F<sup>-</sup> *met pro* Rif<sup>R</sup>) konjugasyon deneylerinde alıcı hücre olarak kullanıldı. *E. coli* ATTC 25922 suşu antibiyogram çalışmalarında kontrol olarak kullanıldı.

##### **3.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar**

Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Araştırma Laboratuvarı alt yapısı kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 3.1'de verildi.

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan cihazlar.

<b>Makina/teçizat adı</b>	<b>Markası</b>	<b>Model</b>
Otoklav	JSR	JSAC 60
Çalkalamalı Su Banyosu	Memmert	WNB22
Distile Su Cihazı	GFL	2001/4
İnkübatör	Memmert	Model 55
Vorteks	Scilogex	MX-S
Magnetik Karıştırıcı	Scilogex	MS-H-S
Analitik Terazı	Ohaus	AV 264C
pH metre	Hanna	HI2211-02
Blok Isıtıcı	Boeco	DBI
Mikrosantrifüj	Sigma	Sigma 1-14
Thermocycler	BioRad	T-100
Horizontal Mini Jel Elektroforez ve Güç kaynağı	Tecne	Tecne B2
UV translimünatör	Daihan	WUV-L50
No-Frost Buzdolabı	Vestel	NF620P
Derin Dondurucu	Vestel	DDP-S1101 W
Mikrodalga Fırın	Vestel	MW 20-MV
Sınıf-1 Steril Kabin	Arma	

#### **3.1.4. Çalışmada Kullanılan Primerler**

Çalışmada çoklu antibiyotik diencine sahip 13 *Enterobacteriaceae* izolatının moleküler karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesinde ve antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde PCR tekniği kullanıldı. PCR çalışmaları için gerekli olan primerler Sentebiolab (Ankara, Türkiye) firmasından temin edildi. Kullanılan primer çiftleri ve özellikleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

#### **3.1.5. *Enterobacteriaceae* İzolatları**

Çalışmada kullanılan *Enterobacteriaceae* izolatları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edildi. Bu tez çalışması için Eylül- Aralık 2018 tarihleri arasında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından 70 bakteri izolatu alındı. Bu izolatlar çeşitli kliniklerden gelen idrar örneklerinden kültür yöntemleri ile izole edilmiş ve VITEK® 2 otomatik sistem (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile Gram-negatif *Enterobacteriaceae* üyesi olarak tanımlanan izolatlardır. Gerçekleştirilen antibiyogramlar sonucunda 13 bakteri izolatında çoklu ilaç direncine sahip olduğu tespit edildi ve bu izolatlar çalışmaya dahil edildi. Çoklu ilaca dirençli 13 *Enterobacteriaceae* izolatlarının tanımlanması ayrıca 16S rRNA gen dizileri kullanılarak gerçekleştirildi.

**Tablo 3.2.** Çalışmada kullanılan primerler

Hedef Gen	Primer	Sekans (5'-3')	bç	T <sub>m</sub> (°C)	Uzama süresi (sn)
16S rRNA	27F	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	1500	55	120
	1492R	TACGGYTACCTTGTTACGACTT			
TEM	Fwd	AGTATTCAACATTTYCGTGT	847	50	60
	Rev	TAATCAGTGAGGCACCTATCTC			
SHV	Fwd	ATGCGTTATATTCGCTGTG	843	56	60
	Rev	TTAGCGTTGCCAGTGCTC			
CTX-M1	Fwd	GCGTGATACCACTTCACCTC	260	55	30
	Rev	TGAAGTAAGTGACCAGAATC			
CTX-M2	Fwd	TGATACCACCACGCCGCTC	341	55	30
	Rev	TATTGCATCAGAAACCGTGGG			
PER1	Fwd	ATGAATGTCATCACAAAATG	927	48	60
	Rev	TCAATCCGGACTCACT			
OXA-1	Fwd	TTTTCTGTTGTTTGGGTTTT	427	50	45
	Rev	TTTCTTGGCTTTTATGCTTG			
Simf-1 İntegron	<i>intl1</i> F	ACATGTGATGGCGACGCACGA	568	50	60
	<i>intl1</i> R	ATTTCTGTCCTGGCTGGCGA			
Simf-2 İntegron	<i>intl2</i> F	CACGGATATGCGACAAAAAGGT	788	58	60
	<i>intl2</i> R	GTAGCAAACGAGTGACGAAATG			
qnrA	Fwd	AGAGGATTTCTCACGCCAGG	580	59	60
	Rev	TGCCAGGCACAGATCTTGAC			
qnrB	Fwd	GGMATHGAAATTCGCCACTG	264	56	30
	Rev	TTTGCGYYCGCCAGTCGAA			
qnrS	Fwd	GCAAGTTCATTGAACAGGGT	428	56	45
	Rev	TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG			
aac(6')-Ib-cr	Fwd	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	482	59	45
	Rev	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT			

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. İzolatların Moleküler Tanımlanması

#### 3.2.1.1. 16S rRNA Gen Dizilerinin Elde Edilmesi

Moleküler tanımlamada en yaygın olarak kullanılan moleküler markır 1.5 kb uzunluğundaki 16S rRNA genidir. Organizmaları sınıflandırmak için kullanılan 16S rRNA geni ilk kez Carl Woese tarafından 1987'de uygulanmıştır. 16S rRNA geni ribozomların yapı ve fonksiyonunda hayati rol oynayan 16S rRNA molekülünü kodlar ve bu nedenle bütün canlı organizmalarda bulunur (Janda ve Abbott, 2007).

İzole edilen 13 *Enterobacteriaceae* izolatının genomik DNA'larının ekstraksiyonu için PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, ABD) kullanıldı. Üretici firmanın önerileri

doğrultusunda izole edilen genomik DNA'lar 16S rRNA genlerinin çoğaltılması için kullanıldı.

16S rRNA geni (yaklaşık 1500 bp) 27F ve 1492R primer çiftleri kullanılarak amplifiye edildi (Tablo 3). 16S rRNA geni son konsantrasyonda; 1XTaq DNA polimeraz buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTPmix, 1.5 pmol/µl 27F ve 1492R primerlerinden, 1.5 U Taq DNA polimeraz enziminde olacak şekilde hazırlandı. Herbir örnek için izole edilen 50 ng/µl genomik DNA'lardan reaksiyonlara 2 µl ilave edildi. Son hacim steril mili-Q water ile 50 µl'ye tamamlandı (Sevim ve Sevim, 2019). PCR reaksiyonları Thermalcycler cihazında 1 döngü 94°C'de 3dk, 36 döngü 94°C'de 45 sn., 55°C'de 45 sn ve 72°C'de 2 dk., 1 döngü 72°C'de 5 dk. olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR işlemi sonucunda elde edilen PCR ürünleri etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve U.V ışığı altında görüntülendi. Elde edilen PCR fragmentlerinin DNA dizin analizleri BMLabosis (Ankara, Türkiye) Laboratuvarlarına gönderilerek hizmet alımı karşılığında gerçekleştirildi.

### **3.2.1.2. Veri Analizi**

Elde edilen ham diziler BioEdit programı ile düzenlendi ve izolatlarının yakından ilişkili olduğu bakteri türleri ile yüzde benzerlikleri NCBI GenBank veri tabanında BLAST taraması yapılarak gerçekleştirildi (Altschul ve diğ., 1990; Hall, 1999).

### **3.2.1.3. GenBank Kabul Numaraları**

İzolatlar için 16S rRNA gen dizileri, GenBank veri tabanında depolandı. İzolatların GenBank Kabul Numaraları Pr3 için OL597923, Pr4 için OL597924, Pr5 için OL597925, Pr6 için OL597926, Pr8 için OL597927, Pr9 için OL597928, Pr10 için OL597929, Pr11 için OL597930, Pr12 için OL597931, Pr13 için OL597932, Pr17 için OL597933, Pr19 için OL597934 ve Pr20 için OL597935 olarak numaralandırıldı.

### **3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Fenotipik GSBL Tespiti**

*Enterobacteriaceae* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre belirlendi (Wayne, 2015). Ampisilin (10 µg), amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg), piperasilin/tazobaktam (110/10 µg), seftriakson (30 µg), seftazidim (30 µg), sefotaksim (30 µg), sefoperazon dahil antibiyotik ajanlar (30 µg), sefuroksim (30 µg), sefaklor (30 µg), sefoksitin (30 µg), sefepim (30 µg), gentamisin (10 µg), amikasin (30 µg), aztreonam (30 µg), siprofloksasin (5 µg), nalidiksik asit (30 µg), ofloksasin (10 µg)

antibiyotik diskleri *Enterobacteriaceae* izolatlarının antibiyotik direnç paternlerini saptamak için kullanıldı. Antibiyogram sonucunda elde edilen zon çapları CLSI kriterlerine göre yorumlandı (CLSI, 2016). Kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı.

GSBL üreten izolatlar, Ceftazidim (30µg), Ceftriaxone (30µg), Cefotaxime (30µg), Aztreonam (30µg) ve Amoksisilin-klavulanat (20/10mg) diskleri kullanılarak Double Disc Synergy Test (DDST) (CLSI, 2016) ile tespit edildi. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre yorumlandı (CLSI, 2016). Kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı.

### **3.2.3. Çoklu Antibiyotik Direnç Fenotipi (MARP) ve Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi (MARI)**

Çoklu ilaca dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının çoklu antibiyotik direnç fenotipi (MARP) ve çoklu antibiyotik direnç indeksi (MARI) tespit edildi. İzolatların MAR indeksi (MARI) daha önce açıklandığı gibi aşağıdaki matematiksel denklem kullanılarak hesaplandı (Fadare ve Okoh, 2021).

$$MAR \text{ indeks} = b/c$$

Burada bakteri türlerinin dirençli olduğu antibiyotiklerin toplamı "b", bakteri türlerine karşı kullanılan antibiyotiklerin toplamı ise "c" ile gösterilir. MARI değerinin 0.2'den yüksek olması o bölgede yoğun bir antibiyotik kullanımının olduğunu ve Antimikrobiyal direncin çoğalma riskinin yüksek olduğu bir ortamı gösterir.

### **3.2.4. Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespit Edilmesi**

*Enterobacteriaceae* izolatlarında Sınıf-1 integron varlığı, β-laktamaz ve kinolon direnç genlerinin varlığı PCR ile belirlendi. PCR reaksiyonu için kullanılan primer çiftleri Tablo 3.2'de verilmiştir. İzolatlardan total DNA izolasyonu Kaynatma metoduna göre gerçekleştirildi (Ausubel ve diğ., 1995).

#### **3.2.4.1. Geniş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL)**

Çalışmamızda *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SVH</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub> (grup 1 ve 2), *bla*<sub>OXA-1</sub> ve *bla*<sub>PER-1</sub> olmak üzere β-laktamaz direnç genlerinin varlığı PCR yardımı ile tespit edildi (Iraz ve diğ., 2015). PCR reaksiyonları için kullanılan primer çiftlerinin sekansları, Tm sıcaklıkları (annealing time),



PCR reaksiyonu için gerekli olan uzama süreleri (extension time) ve çoğaltılan fragment büyüklükleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tüm reaksiyonlar 2XPCR Master Mix (Amplicon, Danimarka)’ten 12.5 µl, 10 pmol/µl konsantrasyondaki primer çiftlerinden 0.5 µl içerecek şekilde hazırlanmıştır. İzole edilen total DNA’dan 5 µl reaksiyona eklenmiş ve son hacim 25 µl’ye steril mili-Q water ile ayarlanmıştır. PCR reaksiyonları thermalcycler cihazında 1 döngü 94°C’de 3dk, 36 döngü 94°C’de 45 sn., Tm sıcaklığında’de 45 sn ve 72°C’de gerekli olan uzama süresi, 1 döngü 72°C’de 5 dk. olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR işlemi sonucunda elde edilen PCR ürünleri etidyum bromür içeren %1’lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve U.V ışığı altında görüntülendi. PCR fragmentleri markır DNA ile karşılaştırılarak genlerin varlığı tespit edildi.

#### **3.2.4.2. Kinolon ve Aminoglikozid Direnç Genleri**

Çalışmamızda *aac(6)-Ib-cr* aminoglikozid direnç geninin ve *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* kinolon direnç genlerinin varlığı PCR yardımı ile tespit edildi (Marchisio ve diğ., 2015). PCR reaksiyonları için kullanılan primer çiftlerinin sekansları, Tm sıcaklıkları (annealing time), PCR reaksiyonu için gerekli olan uzama süreleri (extension time) ve çoğaltılan fragment büyüklükleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tüm reaksiyonlar 2XPCR Master Mix (Amplicon, Danimarka)’ten 12.5 µl, 10 pmol/µl konsantrasyondaki primer çiftlerinden 0.5 µl içerecek şekilde hazırlandı. İzole edilen total DNA’dan 5 µl reaksiyona eklendi ve son hacim 25 µl’ye steril mili-Q water ile ayarlandı. PCR reaksiyonları thermalcycler cihazında 1 döngü 94°C’de 3dk, 36 döngü 94°C’de 45 sn., Tm sıcaklığında’de 45 sn ve 72°C’de gerekli olan uzama süresi, 1 döngü 72°C’de 5 dk. olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR işlemi sonucunda elde edilen PCR ürünleri etidyum bromür içeren %1’lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve U.V ışığı altında görüntülendi. PCR fragmentleri markır DNA ile karşılaştırılarak genlerin varlığı tespit edildi.

#### **3.2.4.3. Sınıf-1 ve Sınıf-2 İntegronların Varlığı**

Çalışmada *Enterobacteriaceae* izolatlarında Sınıf-1 ve Sınıf-2 integronların varlığı PCR yardımı ile belirlendi. Korunmuş integraz bölgeleri (intl1 ve intl2) Sınıf-1 ve Sınıf-2 integron varlığının araştırılmasında kullanıldı (Ploy ve diğ., 2000). İntegraz bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılan primerler Tablo 3’de verilmiştir. PCR reaksiyonları için kullanılan primer çiftlerinin sekansları, Tm sıcaklıkları (annealing time), PCR reaksiyonu için gerekli

olan uzama süreleri (extension time) ve çoğaltılan fragment büyüklükleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Standart PCR’lar 25µL son hacimde yapıldı. Son hacimde 1 x PCR Mastermix tamponu, 0.2 pmol/µl her bir primerden ve 5 µL total DNA olarak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon koşulları: 95°C’de 3 dk. ilk denetürasyon, 35 döngü 95°C’de 45sn., primer bağlanma sıcaklığında 45 sn., 72°C’de 1dk., son sentez 1 döngü 72°C 5 dk olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR işlemi sonucunda elde edilen PCR ürünleri etidyum bromür içeren %1’lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve U.V ışığı altında görüntülendi. PCR fragmentleri markır DNA ile karşılaştırılarak integraz genlerin varlığı tespit edildi.

### 3.2.5. Direncin Aktarılabilirliği

Direnç genlerinin tüm *Enterobacteriaceae* izolatlarında konjugatif plazmitlerde yer alıp almadığı Broth mating metodu kullanılarak konjugasyon testleri ile belirlendi (Muzslay ve diğ., 2017). Alıcı hücre olarak rifampisin dirençli *E.coli* J53-2 (F<sup>-</sup>, pro, met, Rif<sup>R</sup>) suşu kullanıldı. Hem donör hem de alıcı hücreler, gece boyunca Luria Bertani Broth (LB) içinde bir gece inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kültürler 1:1 oranında *E. coli* J53-2 hücresi ile karıştırıldı ve 18 saat boyunca çalkalamasız ortamda 37°C’de inkübe edildi. Transkonjugantlar, Rifampisin (150 µg/ml) ve ampisilin (50 µg/ml) içeren LB Agar plakaları üzerinde seçildi.

Transkonjugant hücrelerin antibiyotik duyarlılık paternleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi, GSBL üretimleri Double Disc Synergy Testleri (DDST) ile belirlendi.

Transkonjugant hücreler Rifampisin (150 ug/ml) ve ampisilin (50 µg/ml) içeren 3 ml LB Broth besiyerlerinde çalkalamalı ortamda 37°C’de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda hücreler santrifüj ile toplandı ve plazmit izolasyonları GeneJet Plasmid Miniprep Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Transkonjugantlardaki β-laktamaz ve kinolon direnç genleri Tablo 3.2’de verilen primerler vasıtasıyla PCR reaksiyonları gerçekleştirilerek tespit edildi. PCR reaksiyonlarında transkonjugant hücrelere ait izole edilen plazmitler kalıp DNA olarak kullanıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. *Enterobacteriaceae* İzolatlarının Tanımlanması

Çalışmaya dahil edilen çoklu ilaç direncine sahip olan 13 *Enterobacteriaceae* izolatı Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden gelen idrar örneklerinden izole edildi. İzolatların izole edildiği hasta örneklerine dair demografik ve klinik özellikler Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Çoklu ilaç dirençli *Enterobacteriaceae* izolatı saptanan olguların demografik ve klinik özellikleri.

İzolat	Yaş/Cinsiyet	Klinik/Servis	Örnek
Pr3	3/K	ÇHS Servis	İdrar
Pr4	1/K	ÇHS Kliniği	İdrar
Pr5	58/E	Üroloji Kliniği	İdrar
Pr6	46/K	Üroloji Kliniği	İdrar
Pr8	67/K	Nefroloji Servis	İdrar
Pr9	78/K	Üroloji Servis	İdrar
Pr10	85/K	Üroloji Servis	İdrar
Pr11	7/E	ÇHS Kliniği	İdrar
Pr12	89/K	Üroloji Servis	İdrar
Pr13	81/K	EHKM Servis	İdrar
Pr17	78/E	EHKM Servis	İdrar
Pr19	64/E	EHKM Servis	İdrar
Pr20	3/E	ÇHS Kliniği	İdrar

K: Kadın, E: Erkek, ÇHS: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, EHKM: Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

İzolatlar Vitek2 otomatik sistem sonuçları ve 16S rRNA gen dizilerinin NCBI GenBank veri tabanından yakın ilişkili olduğu bakteri türleri ile yüzde benzerlikleri karşılaştırılarak tanımlandı. Tür tayininin gerçekleştirilmesinde yüzde benzerlik oranı %97 ve üzerinde kabul edildi. NCBI GenBank taramaları sonucunda Pr3, Pr6, Pr8, Pr9, Pr11 ve Pr17 izolatları *Proteus mirabilis* olarak, Pr10, Pr12 ve Pr13 izolatları *E.coli* olarak, Pr4 ve Pr5 izolatları *Citrobacter koserii* olarak, Pr19 izolatı *Proteus sp.* olarak ve Pr20 izolatı *K. pneumoniae* olarak tanımlandı (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** İzolatların yakından ilişkili olduğu bakteri türleri ile yüzde benzerlikleri

<b>İzolat</b>	<b>Benzer olduğu bakteriler</b>	<b>GenBank No</b>	<b>Örtüşme (%)</b>	<b>Benzerlik (%)</b>
Pr1	<i>Proteus mirabilis</i> strain R8	OL629216.1	99	98.96
	<i>Proteus mirabilis</i> strain F12	OL629193.1	99	98.95
	<i>Proteus mirabilis</i> strain M2	OL629230.1	99	98.95
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R3	OL629211.1	99	98.89
Pr4	<i>Citrobacter koseri</i> strain SCAID URN1-2019	CP052059.1	100	100
	<i>Citrobacter koseri</i> strain FDAARGOS_287	CP022073.2	100	100
	<i>Citrobacter koseri</i> strain AR_0024	CP026709.1	100	100
	<i>Citrobacter koseri</i> strain FDAARGOS_393	CP023527.1	100	100
Pr5	<i>Citrobacter koseri</i> strain SCAID URN1-2019	CP052059.1	100	100
	<i>Citrobacter koseri</i> strain FDAARGOS_287	CP022073.2	100	100
	<i>Citrobacter koseri</i> strain AR_0024	CP026709.1	100	100
	<i>Citrobacter koseri</i> strain FDAARGOS_393	CP023527.1	100	100
Pr6	<i>Proteus mirabilis</i> strain R5	OL629213.1	100	99.72
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R1	OL629209.1	100	99.72
	<i>Proteus mirabilis</i> strain F6	OL629187.1	100	99.72
	<i>Proteus mirabilis</i> strain F3	OL629184.1	100	99.72
Pr8	<i>Proteus mirabilis</i> strain R4	OL629212.1	100	99.86
	<i>Proteus mirabilis</i> strain F6	OL629187.1	100	99.86
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R7	OL629215.1	100	99.76
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R1	OL629209.1	100	99.76
Pr9	<i>Proteus mirabilis</i> strain F3	OL629184.1	100	99.86
	<i>Proteus mirabilis</i> strain ALK419	KC456549.1	99	99.86
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R14	OL629222.1	100	99.78
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R7	OL629215.1	99	99.78
Pr10	<i>Escherichia coli</i> strain EcPF7	CP054232.1	100	99.85
	<i>Escherichia coli</i> strain SCU-182	CP054372.1	100	99.85
	<i>Escherichia coli</i> strain SCU-115	CP054368.1	100	99.85
	<i>Escherichia coli</i> strain EC78E	MT453873.1	100	99.85
Pr11	<i>Proteus mirabilis</i> strain M2	OL629230.1	100	99.71
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R18	OL629226.1	100	99.71
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R14	OL629222.1	100	99.71
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R13	OL629221.1	100	99.71
Pr12	<i>Escherichia coli</i> strain EcPF7	CP054232.1	100	99.06
	<i>Escherichia coli</i> strain SCU-182	CP054372.1	100	99.06
	<i>Escherichia coli</i> strain SCU-115	CP054368.1	100	99.06
	<i>Escherichia coli</i> strain SCU-122	CP051714.1	100	99.06
Pr13	<i>Escherichia coli</i> strain EcPF7	CP054232.1	100	99.71
	<i>Escherichia coli</i> strain SCU-182	CP054372.1	100	99.71
	<i>Escherichia coli</i> strain SCU-115	CP054368.1	100	99.71
	<i>Escherichia coli</i> strain EC78E	MT453873.1	100	99.71

Pr17	<i>Proteus mirabilis</i> strain R18	OL629226.1	100	99.93
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R14	OL629222.1	100	99.86
	<i>Proteus mirabilis</i> strain R8	OL629216.1	100	99.86
	<i>Proteus mirabilis</i> strain F16	OL629197.1	100	99.86
Pr19	<i>Proteus penneri</i> strain ALK416	KC456546.1	100	100
	<i>Proteus sp.</i> YCG13	JF775412.1	100	100
	<i>Bacterium</i> RB5-FF-25	JX827722.1	100	99.93
	<i>Proteus sp.</i> Dahp2	HQ116442.1	100	99.93
Pr20	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain CCFM8369	KJ803926.1	100	99.22
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain F42	MZ389300.1	100	99.22
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain E19	MZ389299.1	100	99.22
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain M2-2-5	MW375526.1	100	99.22

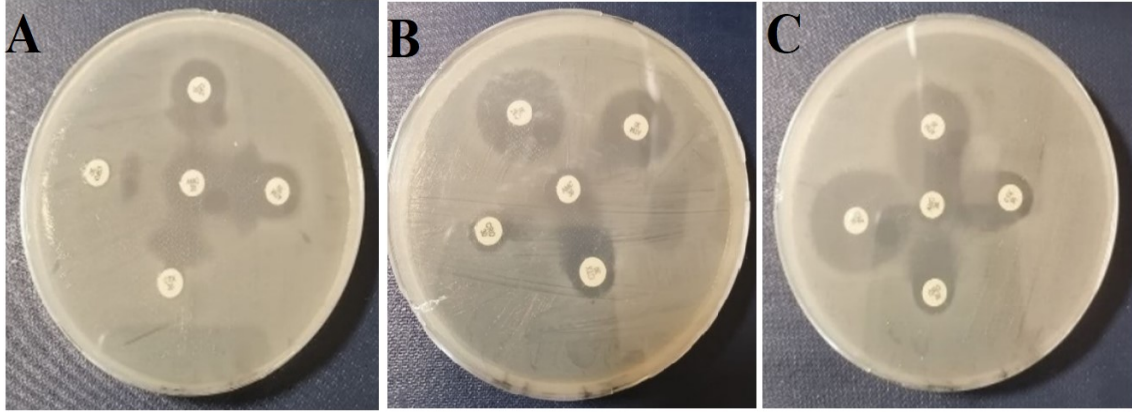
#### 4.2. *Enterobacteriaceae* İzolatlarında Antibiyotik Direnç Profili

*Enterobacteriaceae* izolatlarının tümü (%100)  $\beta$ -laktam,  $\beta/\beta$ -laktamaz inhibitörü, kinolon ve sulfonamid grubu antibiyotikler olan ampisilin, sulbaktam/ampisilin, nalidiksik asit ve trimetoprim/sulfametoksazol antibiyotiklerine dirençlidir. Bu direnci sırasıyla % 61.5 ile siproflaksasin ve oflaksasin, % 46 ile gentamisin, %38 ile sefaklor, %23 ile ampisilin-klavulanik asit, seftriakson, seftazidim, sefotaksim, sefiksim, sefooperazon ve aztreonam, %15 ile piperasilin-tazobactam, sefuroksim ve sefepim, % 7.5 ile sefoksitin antibiyotikleri takip etmektedir. İzolatların hiçbiri karbapenem grubu antibiyotikler olan meropenem ve imipenem karşı dirençli değildir. Ayrıca hiçbir izolatda amikasin direnci tespit edilmedi. Antibiyotik direnç profilleri incelendiğinde *E.coli* Pr10, Pr12 ve Pr13 izolatları en dirençli izolatlardır. *E. coli* Pr10 izolatı test edilen 22 antibiyotiğin 16'sına, Pr12 ve Pr13 izolatı ise 18'ine dirençlidir (Tablo 4.3). Çoklu ilaç direncine sahip 13 izolatın MAR indekleri incelendiğinde; Pr3, Pr4, Pr5, Pr11 ve Pr20 izolatlarının 0.18, Pr9 ve Pr19 izolatlarının 0.27, Pr6 izolatının 0.31, Pr8 ve Pr17 izolatlarının 0.36, Pr13 izolatının 0.72, Pr10 ve Pr12 izolatlarının ise 0.81 değerinde olduğu tespit edildi. Yapılan inceleme sonucunda 5 izolatın (Pr3, Pr4, Pr5, Pr11, Pr20) MAR indeksininin 0.2 den düşük olduğu (%38), 8 izolatın ise MAR indeksininin 0.2 den yüksek olduğu (%62) tespit edildi (Tablo 4.3). Yapılan Çift Diskli Sinerji testi sonucunda Pr10, Pr12 ve Pr13 izolatlarını GSBL ürettiği tespit edildi (Tablo 4.3, Şekil 4.1).

**Table 4.3.** Çoklu ilaç direncine sahip *Enterobacteriaceae* izolatlarının genotipik ve fenotipik özellikleri.

izolatlar	AMP	AMC	TPZ	SAM	CRO	CAZ	CTX	CFM	CEP	CXM	CEC	FOX	FEP	ATM	GN	AK	CIP	OFX	NA	SXT	IMI	MER	GSBL	bla <sub>TEM</sub>	bla <sub>SHV</sub>	bla <sub>CTX-MI</sub>	bla <sub>CTX-M2</sub>	qnrA	qnrB	qnrS	aac(6)-Ib-cr	Sintf-1 integron	Sintf-2 integron	MARI	
1 <i>Proteus mirabilis</i> Pr3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.18
2 <i>Citrobacter koserii</i> Pr4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.18
3 <i>Citrobacter koserii</i> Pr5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.18
4 <i>Proteus mirabilis</i> Pr6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.31
5 <i>Proteus mirabilis</i> Pr8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.36
6 <i>Proteus mirabilis</i> Pr9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.27
7 <i>E. coli</i> Pr10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.81
8 <i>Proteus mirabilis</i> Pr11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.18
9 <i>E. coli</i> Pr12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.81
10 <i>E. coli</i> Pr13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.72
11 <i>Proteus mirabilis</i> Pr17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.36
12 <i>Proteus sp.</i> Pr19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.27
13 <i>K. pneumoniae</i> Pr20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.18

AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin-Klavunolik Asit, TPZ: Piperasilin-Tazobaktam, SAM: Sülbaktam Ampisilin, CRO: Seftriakson, CAZ: Seflazidim, CTX: Sefotaksim, CFM: Sefiksım, CEP: Sefoperazon, CXM: Sefuroksım, CEC: Seftaklor, FOX: Sefoksım, FEP: Sefepım, ATM: Aztreonam, GN: Gentamisin, AK: Amikasin, CIP: Siprofloksasin, OFX: Ofloksasin, NA: Nalidiksik Asit, SXT: Trimethoprim-Süllametakazol, IMI: İmipenem, MER: Meropenem, GSBL: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz, MARI: Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi, Kırmızı dolgu: Hassas, Siyah dolgu: Pozitif, Beyaz dolgu: Negatif



**Şekil 4.1.** Çift Diskli Sinerji Testi pozitif izolatların görüntüsü. A: *E.coli* Pr10 izolatı, B: *E.coli* Pr12 izolatı, C: *E.coli* Pr13 izolatı.

*Enterobacteriaceae* izolatlarında görülen direnç profilleri incelendiğinde en yaygın direnç profili 13 izolatın 5'inde (%38) görülen ampisilin, sulbaktam/ampisilin, nalidiksik asit ve trimethoprim/sulfametaksazol direnç profilidir. İzolatlarda gözlenen diğer direnç profilleri Tablo 4.4'de verilmiştir.

**Tablo 4.4.** İzolatların antibiyotik direnç profilleri.

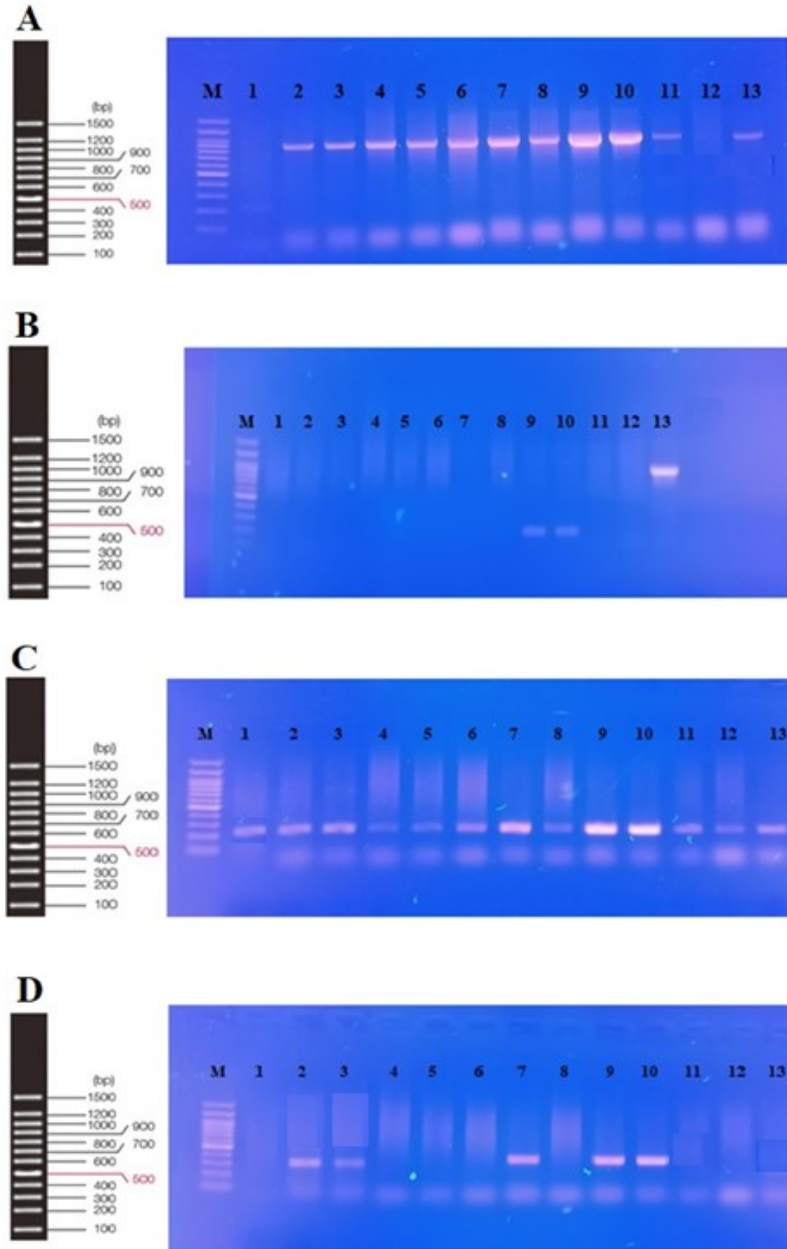
Dirençli olunan antibiyotik paternleri	Dirençli olunan antibiyotik sayısı	Gözlenen fenotip sayısı / (Gözlenen izolatlar)	%
AMP, SAM, NA, SXT	4	5 / (Pr3, Pr4, Pr5, Pr11, Pr20)	38
AMP, SAM, NA, SXT, CIP, OFX	6	2 / (Pr9, Pr19)	15
AMP, SAM, NA, SXT, CIP, OFX, GN	7	1 / (Pr6)	8
AMP, SAM, NA, SXT, CIP, OFX, GN, CEC	8	2 / (Pr8, Pr17)	15
AMP, AMC, TPZ, SAM, CRO, CAZ, CTX, CFM, CEP, CEC, ATM, GN, CIP, OFX, NA, SXT	16	1 / (Pr13)	8
AMP, AMC, SAM, CRO, CAZ, CTX, CFM, CEP, CXM, CEC, FOX, FEP, ATM, GN, CIP, OFX, NA, SXT	18	1 / (Pr10)	8
AMP, AMC, TPZ, SAM, CRO, CAZ, CTX, CFM, CEP, CXM, CEC, FEP, ATM, GN, CIP, OFX, NA, SXT	18	1 / (Pr12)	8

AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin-Klavunolik Asit, TPZ: Piperasilin-Tazobaktam, SAM: Sülbaktam Ampisilin, CRO: Seftriakson, CAZ: Seftezidim, CTX: Sefotaksim, CFM: Sefiksım, CEP: Sefoperazon, CXM: Sefuroksım, CEC: Sefaklor, FOX: Sefoksitin, FEP: Sefepime, ATM: Aztreonam, GN: Gentamisin, AK: Amikasin, CIP: Siproflaksasin, OFX: Ofloksasin, NA: Nalidiksik Asit, SXT: Trimethoprim-Sülfametakazol,

### 4.3. *Enterobacteriaceae* İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genleri

Çoklu ilaç direncine sahip *Enterobacteriaceae* izolatlarında var olan direnç profillerine göre taşıdıkları plazmit aracılı direnç genleri araştırıldı. İzolatların tümü en az bir beta-laktam

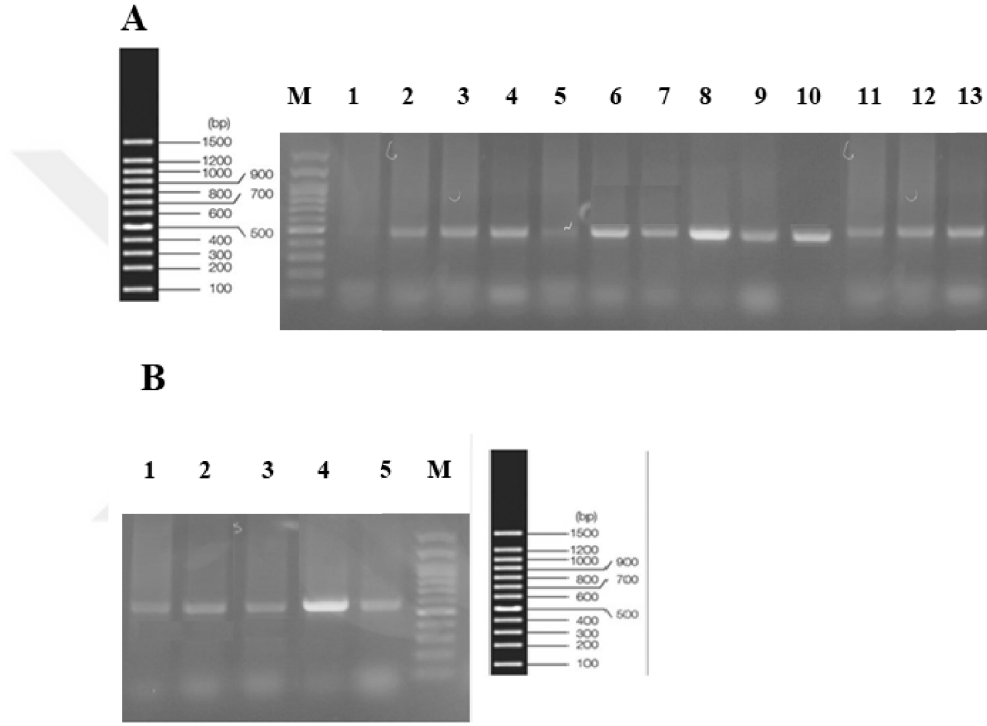
grubu antibiyotiğe karşı dirençli olduğu için, tüm izolatlar GSBL genlerinin varlığı açısından incelendi. *Enterobacteriaceae* izolatlarının hepsinde *bla*<sub>CTX-M1</sub> geni varlığı %100 oranında tespit edildi. İzolatların 11'inde (% 85) *bla*<sub>TEM</sub>, 5'inde (% 38) *bla*<sub>CTX-M2</sub>, 1'inde (% 8) *bla*<sub>SHV</sub> geni tespit edilirken, *bla*<sub>OXA-1</sub> ve *bla*<sub>PER-1</sub> genleri hiçbir izolatda tespit edilemedi (Tablo 4.3, Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Amplifiye olmuş GSBL genlerinin agaroz jel görüntüsü. M: Markır (100 bp DNA Markırı, TransGen Biotek), 1: Pr-3, 2: Pr-4, 3: Pr-5, 4: Pr-6, 5:Pr-8, 6: Pr-9, 7:Pr -10, 8: Pr-11, 9:Pr-12, 10: Pr-13, 11: Pr-17, 12: Pr-19, 13: Pr-20. A: *bla*<sub>TEM</sub>, B: *bla*<sub>SHV</sub>, C: *bla*<sub>CTX-M1</sub>, D: *bla*<sub>CTX-M2</sub> genlerini göstermektedir.



İzolatların tümü en az bir kinolon grubu antibiyotiğe karşı dirençli olduğu için, tüm izolatlar kinolon direnç genlerinin varlığı açısından incelendi. Kinolon direnç genlerinin varlığı açısından incelendiğinde, tüm izolatların (%100) *aac(6')-ib-cr* geni içerdiği, 5 (%38.5) izolatın ise *qnrA* geni içerdiği tespit edildi. Çalışmadaki hiçbir izolatda *qnrS* ve *qnrB* geni tespit edilemedi (Tablo 4.3, Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Amplifiye olmuş kinolon direnç genlerinin agaroz jel görüntüsü. A: *aac(6')-ib-cr* genlerinin amplifiye PCR fragmentleri, M: Markır (100 bp DNA Markırı, TransGen Biotek), : Pr-3, 2: Pr-4, 3: Pr-5, 4: Pr-6, 5:Pr-8, 6: Pr-9, 7:Pr -10, 8: Pr-11, 9:Pr-12, 10: Pr-13, 11: Pr-17, 12: Pr-19, 13: Pr-20. B: *qnrA* genlerinin amplifiye PCR fragmentleri. 1:Pr8, 2: Pr-10, 3: Pr-12, 4: Pr-17, 5:Pr-19, M: Markır (100 bp DNA Markırı, TransGen Biotek).

Çalışmada direnç geni profilleri incelendiğinde; 3 izolatta (% 23) görülen *bla<sub>TEM</sub>-bla<sub>CTX-M1</sub>-aac(6')-ib-cr* ve yine 3 izolatta görülen (%23) *bla<sub>TEM</sub>-bla<sub>CTX-M1</sub>-bla<sub>CTX-M2</sub>-aac(6')-ib-cr* profilleri en sık rastlanan direnç profilleridir. Bu direnç profillerini sırası ile 2 (%15) izolatta görülen *bla<sub>TEM</sub>-bla<sub>CTX-M1</sub>-aac(6')-ib-cr-qnrA* direnci ve yine 2 (%15) izolatta görülen *bla<sub>TEM</sub>-bla<sub>CTX-M1</sub>-bla<sub>CTX-M2</sub>-aac(6')-ib-cr-qnrA* direnç gen profilleri takip etmektedir (Tablo 4.5). Diğer direnç geni profilleri Tablo 4.5'de verilmiştir.

**Tablo 4.5.** Çoklu ilaç dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarında direncin genotipik özellikleri.

Direnç genleri	Sayı	İzolatlar	Yüzde (%)
<i>bla</i> <sub>CTX-M1</sub> , <i>aac</i> (6')- <i>ib-cr</i>	1	Pr3	8
<i>bla</i> <sub>CTX-M1</sub> , <i>aac</i> (6')- <i>ib-cr</i> , <i>qnrA</i>	1	Pr19	8
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M1</sub> , <i>aac</i> (6')- <i>ib-cr</i>	3	Pr6, Pr9, Pr11	23
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M2</sub> , <i>aac</i> (6')- <i>ib-cr</i>	3	Pr4, Pr5, Pr13	23
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M1</sub> , <i>aac</i> (6')- <i>ib-cr</i> , <i>qnrA</i>	2	Pr8, Pr17	15
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M1</sub> , <i>aac</i> (6')- <i>ib-cr</i>	1	Pr20	8
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M2</sub> , <i>aac</i> (6')- <i>ib-cr</i> , <i>qnrA</i>	2	Pr10, Pr12	15

#### 4.4. Sınıf-1 ve Sınıf-2 İntegronların Belirlenmesi

Çalışmada çoklu antibiyotik direncine sahip *Enterobacteriaceae* izolatlarındaki Sınıf-1 ve Sınıf-2 integron varlığı incelendi. *Proteus mirabilis* Pr3, Pr6 ve Pr17, *E. coli* Pr10, Pr12 ve Pr13 ve *K. pneumoniae* Pr20 izolatların Sınıf-1 integron varlığı tespit edildi. *Proteus mirabilis* Pr8 izolatında ise hem Sınıf-1, hemde Sınıf-2 integron varlığı tespit edildi (Tablo 4.3).

#### 4.5. Aktarılabılır Direnç Genlerinin Tespiti

Direncin aktarılabılırlığının tespiti için gerçekleştirilen konjugasyon deneyleri sonucunda *Proteus mirabilis* Pr17 izolatının konjugatif plazmite sahip olduğu ve bu plazmit üzerinde *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M1</sub>, *bla*<sub>CTX-M2</sub>, *qnrA* ve *aac*(6')-*ib-cr* genlerini ve Sınıf-1 integron gen kaseti yapısını taşıdığı tespit edildi. Pr17 izolatının konjugatif plazmitini taşıyan transkonjugant *E. coli* J53-2 hücrelerinin antibiyotik direnç profili incelendiğinde yaban tip hücre ile aynı profili gösterdiği tespit edildi (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6.** *Proteus mirabilis* Pr17 izolatı ve transkonjugant *E. coli* J53-2+ pPr17 hücrelerinin genotipik ve fenotipik özelliklerinin karşılaştırılması.

Direnç profili		Direnç genleri	
Pr17	Transkonjugant hücre (E.coli J53-2+ pPr17)	Pr17	Transkonjugant hücre (E.coli J53-2+ pPr17)
AMP, SAM, CEC, GN, CIP, OFX, NA, SXT	AMP, SAM, CEC, GN, CIP, OFX, NA, SXT	<i>bla<sub>TEM6</sub></i> , <i>bla<sub>CTX-M15</sub></i> , <i>qnrA</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , Simf-1 integron	<i>bla<sub>TEM6</sub></i> , <i>bla<sub>CTX-M15</sub></i> , <i>qnrA</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , Simf-1 integron

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), her yıl dünya çapında 150 milyon insanı etkileyen en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Her yaş grubunda ve cinsiyette görülebilen idrar yolu enfeksiyonları, özellikle anatomik nedenlerle kadınlarda daha sık görülür. Kadınlar için yaşam boyu İYE geçirme riski yüzde 50'den fazladır. Ülkemizde idrar yolu enfeksiyonlarından etkilenen hasta sayısı ve maliyet açısından herhangi bir istatistiksel veri bulunmamakla birlikte, yalnızca Amerika Birleşik Devletleri'nde, İYE şikayeti ile 10.5 milyon hasta ayaktan poliklinik (tüm ayaktan ziyaretlerin %0.9'unu oluşturur) ve 2–3 milyon hasta acil servis ziyareti yapmaktadır. Sağlık hizmetleri maliyetleri ve tedavi dahil olmak üzere bu enfeksiyonların toplumsal maliyetleri, yalnızca Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda yaklaşık 3,5 milyar dolardır (Foxman, 2014; Flores-Mireles ve diğ., 2015).

İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen bakteri spektrumu çok geniştir ve hem Gram pozitif, hemde Gram negatif patojenleri içerir. *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. ve *Citrobacter* spp. sıklıkla İYE'lerinden izole edilen bakterilerdir (Foxman, 2014; Flores-Mireles ve diğ., 2015). Son zamanlarda Avrupa başta olmak üzere birçok Asya ülkesi ve Amerika'da yapılan çalışmalarda İYE patojenlerinin epidemiyolojisinde, Gram negatif türler için benzer epidemiyolojik patojen profillerinin olduğu belgelendi. Bu çalışmalarda, İYE'nin yaygın nedenleri olarak *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis* ve diğer *Enterobacteriaceae* türlerinin önemini bir kez daha ortaya koyuldu. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasının sonuçları da literatür ile uyumludur. Çalışmamızda İYE etkenleri olarak Gram negatif *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde bulunan *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *Citrobacter koseri* bakterileri izole edilmiştir.

Küresel süveyans çalışmalarından biri olan SMART (The Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends) programında 51 ülke 179 bölgeden alınan veriler ile gerçekleştirilen bir çalışmadır. Bu çalışmanın sonucunda 2009-2011 yılları arasında idrar yolu enfeksiyonlarıyla ilişkili en yaygın beş Gram negatif bakteri %44.3 ile *E.coli*, %11.8 ile *K. pneumoniae*, % 5.4 ile *P. aeruginosa*, % 4.6 ile *Proteus mirabilis* ve % 2.5 ile *E. cloacae*

olarak tanımlandı (Hoban ve diğ., 2012; Morrissey ve diğ., 2013). Ülkesel bir sörveyans çalışması olan Druti (The Drug Resistant Urinary Tract Infection) 2012-2013 yılları arasında Fransa'da gerçekleştirildi. Çalışmada İYE semptomları ile hastaneye başvuran 1539 kadın incelenmiş, 538'i çalışmaya dahil edilmiş ve 398'inin idrar kültürlerinde pozitif üreme olduğu tespit edilmiştir. Toplamda 421 bakteri izole edilmiş ve en yaygın 4 patojen % 82.8 ile *E. coli*, %4.3 ile *P. mirabilis*, % 2.1 ile *K. pneumoniae*, % 1.8 ile *C. koseri* olarak tanımlanmıştır (Rossignol ve diğ., 2017). Literatür incelendiğinde İYE çalışmalarında en sık izole edilen bakterilerin *Enterobacteriaceae* üyeleri olduğu gözlemlenmektedir (Qiao ve diğ., 2013; Azargun ve diğ., 2018; Yagel ve diğ., 2018; Goyal ve diğ., 2019; Mohamed ve diğ., 2020). Gerçekleştirilen çalışmalar göstermektedirki; Bu tez çalışmasındaki sonuçlara benzer şekilde idrar yolu enfeksiyonu etkenleri olarak *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. mirabilis* sıklıkla izole edilen bakterilerdir.

Ülkemizde de gerçekleştirilen çalışmalardan bir kaçını incelendiğinde de bu tez çalışmasına benzer şekilde sonuçların tespit edildiği gözlemlendi. Üçüncü basamak bir hastanenin klinik mikrobiyoloji laboratuvarına 1 Aralık 2014 - 1 Ekim 2016 tarihleri arasında gönderilen idrar örneklerinden yapılan incelemede en sık izole edilen İYE etkenlerinin *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. mirabilis* olduğu tespit edilmiştir (Mert ve diğ., 2020). Aynı şekilde Çilburunoğlu ve diğ. (2020) yaptıkları bir diğer çalışmada Ocak 2018-Ocak 2019 tarihleri arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen 2447 orta akım idrar örneğinde en sık izole edilen idrar yolu enfeksiyon etmenlerinin *E. coli* ve *K. pneumoniae* olduğu tespit edilmiştir.

Antibiyotiklerin kullanım sıklığı ve hatta dozajları ve uygulama süreleri ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye ve hatta bir dereceye kadar lokasyona bağlı olarak büyük farklılıklar göstermektedir. Bu durum, dirençli patenlerin ortaya çıkmasında büyük farklılıklara yol açmıştır. Bu nedenle, antimikrobiyal dirençteki eğilimleri düzenli olarak incelemek ve raporlamak önemlidir ve direncin azaltılmasına katkı sağlar (Jena ve diğ., 2017).

İdrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyogram test sonuçlarının zaman alması nedeni ile antibiyotikler sıklıkla hastalara ampirik olarak başlanmaktadır. Son zamanlarda ampirik tedavilere karşı giderek artan oranda tespit edilen direnç gelişimi önemli bir sorundur ve tedavideki başarıyı önemli ölçüde düşürmektedir. Antibiyotik direnç konusu göz önüne alındığında ampirik tedavi için seçilen antibiyotik oldukça önemlidir. Tedavide antibiyotik seçiminin başarılı bir şekilde yapılabilmesi için çalışılan bölge ve hastanenin antibiyotik

duyarlılık sonuçlarının bilinmesi ve belirli aralıklar ile izlenmesi çok önemlidir. İdrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde beta laktamlar, trimetoprim/sülfametoksazol ve siproflaksasin en sık kullanılan ajanlardır (Mert ve diğ., 2020; Çilburunoğlu ve diğ., 2020; Karadeniz ve Hamidi, 2021).

İYE tedavisinde antibiyotiklerin yanlış ve aşırı kullanımı antibiyotik seçici baskısına neden olur. Bu durum çoklu ilaca dirençli bakterilerin hızla artmasını ve yayılmasını beraberinde getirir. Günümüzde, idrar yolu enfeksiyonlarında sıklıkla izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinde birçok antibiyotiğe duyarlılığın azaldığı gözlemlenmektedir. Bu sert durum klinikte yaygın olarak görülmektedir ve bu durum artan hastane maliyetine, hastanede kalış süresinin uzamasına ve ayrıca tekrarlayan tedavi başarısızlığına yol açabilmektedir (Pitout ve diğ., 1997; Jena ve diğ., 2017). İYE kaynaklı çoklu ilaca dirençli izolatlar dünya çapında giderek artmaktadır ve bu birçok ülkede ciddi bir sorundur. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında izolatlarının tümü (%100) kullanılan ampisilin, sulbaktam/ampisilin, nalidiksik asit ve trimetoprim/sülfametoksazol antibiyotiklerine dirençli olarak tespit edildi. Bu direnci sırasıyla % 61.5 ile Siproflaksasin ve Oflaksasin, % 46 ile gentamisin, %38 ile Sefaktor, %23 ile Ampisilin-Klavulanik asit, Seftriakson, Seftazidim, Sefotaksim, Sefiksim, Sefoperazon ve Aztreonam, %15 ile Piperasilin-Tazobactam, Sefuroksim ve Sefepim, % 7.5 ile Sefoksitin antibiyotikleri takip etmektedir. Çalışmada tespit edilen antibiyotik direnç oranları ülkemizde ve dünyada gerçekleştirilen birçok çalışma ile uyumludur.

Druti ülkesel sürveyans çalışmasında (The Drug Resistant Urinary Tract Infection-Fransa) idrar yolu enfeksiyon etkeni 421 bakteri izole edilmiş ve *E. coli* % 82.8 oranı ile en yaygın patojen olarak tespit edilmiştir. Çalışmada gerçekleştirilen antibiyogram testleri sonucunda direnç oranları incelendiğinde; 331 *E.coli* izolatının % 38'inin amoksisiline, % 18.1'inin trimetoprim/sülfametoksazole, % 8.7'sinin amoksisilin-klavunolik asite, %5.4'ünün nalidiksik asite, % 5.1'inin ofloksasine ve % 1.9'unun siproflaksasin, sefuroksim, sefotaksim ve seftazidim antibiyotiklerine dirençli olduğu tespit edilmiştir (Rossignol ve diğ., 2017).

Literatür incelendiğinde; İYE etkeni gram negatif basillerde trimetoprim/sülfametoksazol, beta-laktam, kinolon ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç gelişiminin mevcut olduğu gözlemlendi. Dirençli bakterileri içeren yayınlar hemen hemen dünyanın her yerinden rapor edilmektedir (Hoban ve diğ., 2012; Khawcharoenporn ve diğ., 2013; Machisio ve diğ., 2015; Qiao ve diğ., 2013; Zeynudin ve diğ., 2018; Mohamed ve diğ., 2020).

Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde İYE etkeni gram negatif basillerde en sık rastlanan direnç trimetoprim/sülfametoksazol, beta-laktam, kinolon ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşıdır. İgan ve Hancı (2020) yaptıkları çalışmada Temmuz 2014-Temmuz 2018 tarihleri arasında Erzurum Paladöken Şehir Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 4 yıllık periodta yoğun bakımda yatan hastalardan gönderilen 910 idrar örneğinden kültürler gerçekleştirmiş ve 113 gram negatif bakteri izole etmişlerdir. İzole edilen mikroorganizmaların dağılımı ve gram negatif bakterilerin antibiyotiklere direnç oranlarının incelenmesi sonucunda; *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. bakterilerini en sık izole edilen etkenler olarak tanımlamışlardır. *E. coli*, *Klebsiella* spp. etkenlerinin direnç oranları incelendiğinde en yüksek direncin beta-laktam, kinolon, aminoglikozid ve trimetoprim/sülfametoksazol antibiyotiklerine karşı olduğunu tespit etmişlerdir.

Gerçekleştirilen bir diğer çalışmada Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi yataklı servis ve polikliniklerinden 01.01.2012-31.12.2015 tarihleri arasında mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 4421 idrar örneğinin kültür ve antibiyogram sonuçları değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. en sık rastlanan etkenlerdir. Antibiyogram sonuçları beraber değerlendirildiğinde en yüksek direncin ampisilin (%75.1), sefazolin (%59), ampisilin-sulbaktam (%49.7), trimetoprim-sülfametoksazol (%45.2), sefiksım (%33.1), seftriaksona (%31.4), piperasilin tazobaktama karşı (%23.2), siprofloksasin (%21.1) ve amikasine (%16.2) karşı saptandığı görülmektedir (Kömürlüoğlu ve diğ., 2018).

Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında rehberlerde idrar yolu enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde kullanımı önerilen trimetoprim/sülfametoksazole, beta-laktam ve kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç belirlenmiştir. Literatürler incelendiğinde hem ülkemiz, hemde dünya çapında bu direnç paternlerinin arttığı gözlemlenmektedir. Tedavi seçeneklerinde bu direncin gözden geçirilmesi ve duyarlı olunan diğer antibiyotiklerin kullanılması önerilmektedir.

İdrar yolu enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotikler arasında  $\beta$ -laktamlar, önemli toksisitelerinin olmaması nedeniyle en yaygın olarak tercih edilen kemoterapötik ajanlardır. Kullanılan tüm sistemik antibiyotiklerin %50'sinden fazlasını oluştururlar (Jena ve diğ., 2017).

Beta-laktam ajanlara karşı *Enterobacteriaceae* grubunda, antimikrobiyal direncin başlıca aracı  $\beta$ -laktamaz üretme yeteneğidir. Bu enzimler, GSBL'ları ve pAmpC'yi içerir (Fadere ve Okoh, 2021). Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında da Tablo 4.3'de belirtildiği üzere izolatların GSBL enzimlerine sahip olma yetenekleri oldukça endişe vericidir. İzolatlarda tespit edilen *bla*<sub>CTX-M1</sub> (% 100) ve *bla*<sub>TEM</sub> (%40) genleri, tanımlanan en yaygın iki GSBL tipidir.

Günümüze kadar genişlemiş spektruma sahip birçok beta-laktamaz enziminin varlığı tespit edildi. Bunlardan biride 1990'ların başlarında tanımlanan CTX-M enzimleridir. 1980'lerde en yaygın GSBL'ler TEM ve SHV iken, 21. yüzyılın başından beri CTX-M tipleri daha baskın hale gelmiştir (Girlich vd., 2020). CTX-M grubunda CTX-M1 tipi en yaygın görülen tiptir ve İtalya (Giani ve diğ., 2017), Mısır (Mohamed ve diğ., 2020), Hindistan (Singh ve diğ., 2012), İsviçre (Lartigue ve diğ., 2007), Suudi Arabistan (Al-Agamy ve diğ., 2014), Suriye (Ibrahim ve diğ., 2015), Pakistan (Khan ve diğ., 2010) ve Çin'de (Shi ve diğ., 2015) oldukça yaygındır.

Mohammed ve diğ. (2020) yılında Mısır'da gerçekleştirdikleri bir çalışmada İYE etkeni 311 *Enterobacteriaceae*'de GSBL tanımlamışlardır. CTX-M1 % 81.6 oranı ile tanımlanan en yaygın GSBL'dir ve bunu TEM (% 60.7) enzimi takip etmektedir. Brezilya'da gerçekleştirilen bir diğer çalışmada İYE etkeni olarak 472 *Enterobacteriaceae* üyesi izole edilmiş ve GSBL içeriği yönünden taranmıştır. Çalışmanın sonucunda en yaygın GSBL % 80.5 oranı ile CTX-M1 olarak tespit edilmiş ve bunu % 52.7 ile TEM tipi beta-laktamaz takip etmiştir (Abreu ve diğ., 2013). SMART programında Kuzey Amerika ve Avrupa'da 2009–2010 yıllarında, İYE'li hastanede yatan hastalardan 4004 Gram negatif basil toplanmış ve *Enterobacteriaceae* üyesi bakteriler izole edilmiştir. Çalışmada dirençli izolatların beta-laktamaz genleri araştırılmış ve izolatlarda baskın  $\beta$ -laktamaz geninin CTX-M  $\beta$ -laktamazlar olduğu bunu sırasıyla TEM ve SHV tipi  $\beta$ -laktamazların takip ettiği tespit edildi (Hoban ve diğ., 2012). İdrar yolu enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen çoklu ilaç direncine sahip 13 *Enterobacteriaceae* izolatında gerçekleştirilen bu tez çalışmasında CTX-M1 tipi GSBL direncinin en yaygın direnç geni olduğu ve izolatların tümünde (%100) var olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar göstermektedir ki; gerek gerçekleştirilen bu tez çalışması olsun, gerekse dünya çapında gerçekleştirilen çalışmalar da olsun beta-laktamaz dirençli İYE etkenlerinde en sık rastlanan GSBL enzimleri CTX-M ve TEM tipidir. Bu bulgular, CTX-M tipi GSBL'lerin bugüne kadarki en yaygın ve global olarak baskın GSBL genotipleri olduğu gerçeğiyle uyumludur.



Gerçekleştirilen tez çalışmasında *bla*<sub>CTX-M1</sub> geninin tüm izolatlarda ve *bla*<sub>TEM</sub> geninin ise 11 izolatta tespit edilmesine rağmen izolatların sadece 3'ü fenotipik olarak GSBL pozitif bulundu. GSBL'nin fenotipik tanımlaması, enzimin klavulanik asit tarafından inhibisyonuna dayanır. Klavulanik asitin inhibe edici etkisi maskelendiği durumlarda GSBL fenotipik olarak tespit edilemeyebilir. Klavulanik asidin inhibitör etkisinin maskelenebileceği durumlar arasında direnç sağlayan birden fazla enzimin bir arada bulunması, örneğin ESBL + AmpC tipi enzimler, hücre zarlarının gözeneklerindeki değişiklikler ve beta laktamaz inhibitörleri için düşük afiniteye sahip TEM ve SHV tipi beta laktamazlardır. Ayrıca aynı mikroorganizma tarafından farklı tipte beta-laktamazların (TEM, SHV, CTX-M, OXA) üretilmesi hatalı fenotipik sonuçlara yol açabilir (de Oliveira ve diğ., 2010). Benzer sonuçlar literatürde Sanguinetti ve diğ. (2003), Yazdi ve diğ. (2012), Gautam ve diğ. (2019) çalışmalarında da mevcuttur. Çalışmamızın sonuçları incelendiğinde Pr3 ve Pr 19 izolatları hariç fenotipik GSBL negatif olan tüm izolatlarda birden fazla  $\beta$ -laktamaz enzimin olduğu görülmektedir. Bu durum fenotipik GSBL'nin inhibe edici etkisini maskeleyeceği yönünde düşünülmektedir.

GSBL negatif izolatlar ile karşılaştırıldığında, GSBL pozitif izolatların (Pr10, 12 ve 13) ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli oldukları gözlemlendi. Bu durum pozitif izolatların yüksek afiniteye sahip beta laktamaz enzimlerini içerdiklerini düşündürmektedir. Aynı zamanda GSBL pozitif izolatların gentamisin, siproflaksasin, ofloksasin, nalidiksit asit ve trimetoprim sülfametaksazol gibi  $\beta$ -laktam olmayan antibiyotiklere karşı önemli ölçüde yüksek oranda direnç içerdiği görüldü. Bunun nedeni muhtemelen GSBL genlerinin bir organizmadan diğerine kolayca aktarılabilmesini sağlayan bir plazmit üzerinde yer alması ve diğer antimikrobiyal sınıflara direnç sağlayan genlerinde bu plazmitler üzerinde bulunması ve beraber aktarılmasından dolayıdır.

Çalışmamızda *E. coli* Pr10, Pr12 ve Pr13 nolu izolatlar MARI en yüksek olan izolatlardır. Çoklu ilaç direncine sahip bu izolatlar ile gelişecek olan bir enfeksiyon hastalığında tedavi için seçilebilecek antibiyotiklerin oldukça kısıtlı olduğu direkt göze çarpmaktadır. Konjugasyon çalışmalarında bu izolatlarda konjugatif bir plazmit bulunması umut verici olmasına rağmen taşıdıkları direnç genlerinin konjugatif olmayan plazmitler üzerinde beraber taşıdığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda tüm izolatlarda *aac(6')-Ib-cr* geni pozitif olarak tespit edildi. Beş izolatta *qnrA* geni tespit edilirken, hiçbir izolatta *qnrB* ve *qnrS* geni tespit edilemedi. Kinolon dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının varlığı dünya çapında giderek daha fazla rapor edilmektedir.

Çoğu çalışma, *qnr* genlerine kıyasla daha yüksek bir *aac(6')-Ib-cr* taşıma oranı göstermiştir (Domokos ve diğ., 2016; Szabo ve diğ., 2018; Azargun ve diğ., 2018).

Çalışmamızın sonuçları incelendiğinde İYE etkeni *Enterobacteriaceae* izolatlarında florokinolonların ve  $\beta$ -laktamazların yüksek oranda (%100) bir arada bulunduğu görülmektedir. GSBL üreticileri genellikle florokinolonlar gibi diğer antibiyotiklere dirençlidir. Aynı mobil genetik elementlerde GSBL ve bazı florokinolon dirençli genlerin varlığı,  $\beta$ -laktamlara ve florokinolonlara karşı birlikte direncin nedenidir (Azargun ve diğ., 2018). Sonuçlarımız, literatürde gerçekleştirilmiş diğer çalışmalar ile benzer olarak GSBL üreten izolatlarda florokinolonlara direncinin önemli ölçüde yüksek olduğunu gösterdi. GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyeleri arasındaki çoklu ilaç direnci durumu oldukça önemli olup, tedavi seçeneklerini sınırlar.

*qnr* genleri *AmpC*  $\beta$ -laktamazlar, GSBL'ler ve karbapenemazlar ile ilişkilidir ve çoklu ilaç direnci sağlayan aynı konjugatif plazmit üzerinde taşınırlar (Ibadene ve diğ., 2008). *Enterobacteriaceae* izolatları arasında *qnrA* geni ile CTX-M1, CTX-M9, CTX-M14, CTX-M-15, TEM-116, SHV-7, SHV-12, SHV-27 ve VEB-1 arasındaki güçlü bağ birçok çalışmada gösterildi (Nazic ve diğ., 2005; Lavigne ve diğ., 2006; Azargun ve diğ., 2018).

Çalışmamızda gerçekleştirilen konjugasyon deneyleri sonucunda, *P. mirabilis* Pr17 izolatında konjugatif bir plazmit varlığı tespit edildi. Konjugatif plazmit üzerinde taşınan genler araştırıldığında yabantipte bulunan *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M1</sub>, *qnrA*, *aac(6')-Ib-cr* genlerinin tümünün ve Sınıf-1 integron gen kaseti yapısının konjugatif plazmit üzerinde olduğu tespit edildi. Literatür incelendiğinde *aac(6')-Ib-cr* geni, GSBL ve *qnr* genlerinin çok dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarında konjugatif plazmitlerde (IncL/M) sınıf-1 integron kasetlerinin içerisinde tanımlandığı görüldü (Jiang ve diğ., 2008; Kang ve diğ., 2009). Çalışmamızda elde edilen konjugatif plazmitin gerçekleştirilecek ileriki çalışmalar ile tüm DNA dizin analizi gerçekleştirilecektir. Elde edilecek olan sekansların analizi ile tespit edilen direnç genlerinin integron gen kaseti içerisinde bulunup bulunmadığı tespit edilecektir.

Sonuç olarak; Çalışmamızda İYE olarak izole edilen 13 *Enterobacteriaceae* izolatında CTX-M1 tipi  $\beta$ -laktamaz ve *aac(6')-Ib-cr* (plazmit aracılı kinolon direnci) genlerinin en yaygın direnç genleri olduğu tespit edildi. *E.coli* Pr10, Pr12 ve Pr13 izolatlarının en yüksek MAR indeksine sahip oldukları ve fenotipik olarak GSBL ürettikleri tespit edildi. *P. mirabilis* Pr17 izolatının konjugatif bir plazmit içerdiği tespit edildi. Konjugatif plazmit üzerinde *bla*<sub>TEM</sub>,

*bla<sub>CTX-M1</sub>*, *qnrA*, *aac(6')-ib-cr* genlerinin tümünün ve Sınıf-1 integron gen kaseti yapısının bulunduğu tespit edildi. İYE'lerden izole edilen *Enterobacteriaceae*'de  $\beta$ -laktamlara ve florokinolonlara direnç oranı yüksek olarak tespit edildi. Halk sağlığı için tehdit edici bir durum olan antibiyotik direnç sorunu düşünüldüğünde; çalışmamız bu direncin tüm yönleri ile aydınlatılmasında çok önemlidir. Bölgemizde farklı antibiyotiklere direncin artması ve çoklu ilaca dirençli suşların ortaya çıkması, hem toplumda hem de hastanede daha iyi sürveyans ve iyi hijyen ve antibiyotik uygulamalarına yol açmalıdır.



## KAYNAKLAR

- Abreu, A.G., Marques, S.G., Monteiro-Neto, V., Gonçalves, A.G., 2013, Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in community-acquired urinary tract infections in São Luís, Brazil, *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 469-471.
- Abushaheen, M.A., Fatani, A.J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Jhugroo, P., 2020. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66 (6), 100971.
- Aktuğlu, Y., 1997, *Giriş ve Genel Bilgiler*, Pratikte Antibiyotik Kullanımı, In: Aktuğlu Y (Ed), Yayın No: 1, Sempozyum Dizisi.
- Aladağ, M.O., Durak, Y., 2007, Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* 'ların Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları, *Fırat Sag Hiz Derg*, 2(4), 40-50.
- Al-Agamy, M.H., Shibl, A.M., Hafez, M.M., Al-Ahdal, M.N., Memish, Z.A., Khubnani, H., 2014, Molecular characteristics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in Riyadh: emergence of CTX-M-15-producing *E. coli* ST131, *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 13 (1), 1-8.
- Allerberger, F., Gareis, R., Jindrák, V., Struelens, M.J., 2009, Antibiotic stewardship implementation in the EU: the way forward. *Expert Rev, Anti Infect Ther*, 7 (10), 1175-83.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J., 1990, Basic local alignment search tool, *J Mol Biol*, 215, 403-410.
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M.I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Baloch, Z., 2018, Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and drug resistance*, 11, 1645.
- Ausubel, F.M., Brient, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., Struhl, K., 1995, *Short Protocols in Molecular Biology*, 2<sup>nd</sup> ed., John Willey & Sons, New York, N.Y., USA.
- Azargun, R., Sadeghi, M.R., Barhaghi, M.H.S., Kafil, H.S., Yeganeh, F., Oskouee, M.A., Ghotaslou, R., 2018, The prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance and ESBL-production in *Enterobacteriaceae* isolated from urinary tract infections. *Infection and drug resistance*, 11, 1007-1014.
- Balsalobre, L., Blanco, A., Alarcón, T., 2019, Beta-Lactams. *Antibiotic Drug Resistance*, 57-72.

- Beceiro, A., Tomás, M., Bou, G., 2013, Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world?, *Clin Microbiol Rev*, 26, 185–230.
- Bilgehan, H., 2000, *Enterobacteriaceae*, Klinik Mikrobiyolojik Tanı (10. baskı). İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi.
- Bush, K., Jacoby, G.A., 2010, Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases, *Antimicrob Agents Ch*, 54, 969–976.
- Choi, K.H., Park, S., Lee, J.H., Kwon S., 2012, Factors affecting the prescribing patterns of antibiotics and injections, *Journal of Korean Medical Science*, 27 (2), 120–127.
- CLSI. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100S. 2016;26:1–129.
- Çilburunoğlu, M., Kirişçi, Ö., Yerlikaya, H., Uğurlu, H., Aral, M., Muratdağı, G., 2020, Bir Üniversite Hastanesine Gönderilen İdrar Kültürlerinde Üreyen İzolatların Dağılımı ve Antimikrobiyal Duyarlılık Profilinin İncelenmesi, *Sakarya Tıp Dergisi*, 10 (4), 677-683.
- D'Agata, E.M.C., Dupont-Rouzeyrol, M., Magal, P., Olivier, D., Ruan, S., 2008, The impact of different antibiotic regimens on the emergence of antimicrobial-resistant bacteria, *PLoS ONE*, 3 (12), 1-11.
- de Oliveira, C.F., Salla, A., Lara, V.M., Rieger, A., Horta, J.A., Alves, S.H., 2010, Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases-producing microorganisms in nosocomial patients and molecular characterization of the SHV type isolates. *Braz J Microbiol*, 41, 278–82.
- Dhanalakshmi, J., Selvi, S., 2013, Antibacterial Activity of Medicinal Plants used against UTI (Urinary Tract Infection) causing Pathogens, *International Journal of Research in Sciences*, 1, 01-07.
- Domokos, J., Kristóf, K., Szabó, D., 2016, Plasmid-mediated quinolone resistance among extended spectrum beta lactase producing *Enterobacteriaceae* from bloodstream infections, *Acta Microbiol Immunol Hung*, 63 (3), 313–23.
- Doyle, M.P., Schoeni, J.L., 1984, Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis, *Appl Environ Microbiol*, 48 (4), 855-856.
- Fadare, F.T., Okoh, A.I., 2021, Distribution and molecular characterization of ESBL, pAmpC  $\beta$ -lactamases, and non- $\beta$ -lactam encoding genes in *Enterobacteriaceae* isolated from hospital wastewater in Eastern Cape Province, South Africa, *Plos one*, 16 (7), e0254753.

- Flores-Mireles, A.L., Walker, J.N., Caparon, M., Hultgren, S.J., 2015, Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options, *Nature reviews microbiology*, 13 (5), 269-284.
- Gautam, V., Thakur, A., Sharma, M., Singh, A., Bansal, S., Sharma, A., Ray, P., 2019, Molecular characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae*: a multi-centric study from tertiary care hospitals in India, *The Indian journal of medical research*, 149 (2), 208-2016.
- Giani, T., Antonelli, A., Caltagirone, M., Mauri, C., Nicchi, J., Arena, F., Nucleo, E., Bracco, S., Pantosti, A., The AMCLI-CoSA survey participants, Luzzaro, F., Pagani, L., Rossolini, G. M., 2017, Evolving beta-lactamase epidemiology in Enterobacteriaceae from Italian nationwide surveillance, October 2013: KPC-carbapenemase spreading among outpatients, *Eurosurveillance*, 22 (31), 30583-95.
- Girlich, D., Bonnin, R.A., Dortet, L., Naas, T., 2020, Genetics of acquired antibiotic resistance genes in *Proteus* spp., *Frontiers in Microbiology*, 11, 256-262.
- Goyal, D., Dean, N., Neill, S., Jones, P., Dascomb, K., 2019, Risk factors for community-acquired extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* infections—A retrospective study of symptomatic urinary tract infections. In *Open forum infectious diseases*, 6 (2), 357-367.
- Gür, D., Ünal, S., 2001, Resistance to antimicrobial agents in Mediterranean countries, *Int J Antimicrob Agents*, 17 (1), 21-26.
- Hall, T.A., 1999, BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT, *Nucleic Acids Symp*, 41, 95–98.
- Hoban, D.J., Lascols, C., Nicolle, L.E., Badal, R., Bouchillon, S., Hackel, M., Hawser, S., 2012, Antimicrobial susceptibility of *Enterobacteriaceae*, including molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing species, in urinary tract isolates from hospitalized patients in North America and Europe: results from the SMART study 2009–2010, *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 74 (1), 62-67.
- Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Ramdani-Bouguessa, N., Lounes, S., Bakour, R., Arlet, G., 2008, Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria, *J Antimicrob Chemother*, 62 (1), 133–6.

- Ibrahim, A.S., Youssef, N., 2015, Prevalence of CTX-M, TEM and SHV Betalactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from Aleppo University Hospitals, Aleppo, Syria, *Arch Clin Infect Dis*, 10 (2), e22540.
- Iraz, M., Düzgün, A.Ö., Sandallı, C., Doymaz, M.Z., Akkoyunlu, Y., Saral, A., Çiçek, A.Ç., 2015, Distribution of  $\beta$ -lactamase genes among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from patients in Turkey, *Annals of laboratory medicine*, 35 (6), 595-601.
- İgan, H., Hancı, H., 2020, Dört Yıllık Süreçte Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastaların İdrar Kültürlerinde Üreyen Mikroorganizmaların Dağılımı ve İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Antibiyotik Dirençleri, *Turk J Intensive Care*, 20, 25-30.
- Jacoby, G., Han, P., Tran, J., 1997, Comparative in vitro activities of carbapenem L-749, 345 and other antimicrobials against multiresistant gram negative clinical pathogens, *Antimicrob Agents Chemother*, 41 (8), 1830-1839.
- Janda, J.M., 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.
- Jena, J., Sahoo, R.K., Debata, N.K., Subudhi, E., 2017, Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections in adults, *3 Biotech*, 7 (4), 1-7.
- Jiang, Y., Zhou, Z., Qian, Y., Wei, Z., Yu, Y., Hu, S., Li, L., 2008, Plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac (6)-Ib-cr in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in China, *J Antimicrob Chemother*, 61 (5), 1003-6.
- Kang, H.Y., Tamang, M.D., Seol, S.Y., Kim, J., 2009, Dissemination of plasmid-mediated qnr, aac (6)-Ib-cr, and qepA genes among 16S rRNA methylase producing Enterobacteriaceae in Korea, *J Bacteriol Virol*, 39 (3), 173-82.
- Karadeniz, A., Hamidi, A.A., 2021, Üropatojenlerde Antibiyotiklere Direnç Durumu: Sık Kullandığımız Ajanlar Etkili mi?, *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 47 (1), 23-27.
- Kayış, U., 2019, Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları, *Aydın Sağlık Dergisi*, 5 (1), 1-12.
- Khan, E., Schneiders, T., Zafar, A., Aziz, E., Parekh, A., Hasan, R., 2010, Emergence of CTXM Group 1-ESBL producing *Klebsiella pneumoniae* from a tertiary care Centre in Karachi, Pakistan, *J Infect Dev Ctries*, 4 (08), 472-6.

- Khawcharoenporn, T., Vasoo, S., Singh, K., 2013, Urinary Tract Infections due to Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae*: Prevalence and Risk Factors in a Chicago Emergency Department, *Emergency Medicine International*, 18, 1–7.
- Komala, M., Kumar, K.S., 2013, Urinary tract infection: causes, symptoms, diagnosis and its management, *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1 (2), 226-232.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., 2006, *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (6. baskı). Philadelphia: Lippincott.
- Kömürlüoğlu, A., Aykaç, K., Özsürekcı, Y., Başaranoğlu, S.T., Bıçakcığıl, A., Liste, Ü., Ceyhan, M., 2018, Gram negatif idrar yolu enfeksiyonu etkenlerinin antibiyotik direnç dağılımı: Tek merkez deneyimi, *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi*, 12 (1), 10-17.
- Kumar, A., Schweizer, H.P., 2005, Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake, *Adv Drug Deliver Rev*, 57, 1486–1513.
- Lartigue, M.F., Zinsius, C., Wenger, A., Bille, J., Poirel, L., Nordmann, P., 2007, Extended spectrum  $\beta$ -lactamases of the CTX-M type now in Switzerland, *Antimicrob Agents Chemother*, 51 (8), 2855–60.
- Lavigne, J.P., Marchandin, H., Delmas J, Bouziges, N., Lecaillon, E., Cavalie, L., Jean-Pierre, H., Bonnet, R., Sotto, A., 2006, *qnrA* in CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates from France, *Antimicrob Agents Chemother*, 50 (12), 4224–8.
- Llor, C., Bjerrum, L., 2005, Background for different use of antibiotics in different countries, *Clin Infect Dis*, 40 (2), 333-340.
- Mahon, C.R., Lehman, D.C., Manuselis, G., 2014, Antimicrobial agent mechanisms of action and resistance, In: *Textbook of Diagnostic Microbiology*, St. Louis: Saunders, 254–273.
- Marchisio, M., Porto, A., Joris, R., Rico, M., Baroni, M.R., Di Conza, J., 2015, Susceptibility to  $\beta$ -lactams and quinolones of *Enterobacteriaceae* isolated from urinary tract infections in outpatients, *Brazilian Journal of Microbiology*, 46, 1155-1159.
- Martinez, J.L., 2014, General principles of antibiotic resistance in bacteria, *Drug Discov Today*, 11, 33–39.
- Mert, D., Çeken, S., Ertek, M., 2020, İdrar yolu enfeksiyonlarında kültürden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 77 (1), 25-32.



- Mohamed, E.S., Khairy, R M., Abdelrahim, S.S., 2020, Prevalence and molecular characteristics of ESBL and AmpC  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacteriaceae* strains isolated from UTIs in Egypt, *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9 (1), 1-9.
- Morrissey, I., Hackel, M., Badal, R., Bouchillon, S., Hawser, S., Biedenbach, D., 2013, A review of ten years of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) from 2002 to 2011, *Pharmaceuticals*, 6 (11), 1335-1346.
- Nazic, H., Poirel, L., Nordmann, P., 2005, Further identification of plasmidmediated quinolone resistance determinant in *Enterobacteriaceae* in Turkey, *Antimicrob Agents Chemother*, 49 (5), 2146–7.
- Okojie, R.O., Omorokpe, V.O., 2018, A survey on urinary tract infection associated with two most common uropathogenic bacteria, *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 19 (3), 111-118.
- Öztürk, R., 2008, Akılcı antibiyotik kullanımı ve ülkemizde antimikrobik maddelere direnç sorunu, *Toplumdan edinilmiş enfeksiyonlara pratik yaklaşımlar Sempozyum Dizisi*, 61, 1-6.
- Pitout, J.D., Sanders, C.C., Sanders, W.E., 1997, Antimicrobial resistance with focus on beta-lactam resistance in gram-negative bacilli, *Am J Med*, 103, 51–59.
- Pitout, J.D., Loupland, K.B., 2008, Extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern, *Lancet Infect Dis*, 8 (3), 159–166.
- Ploy, M.C., Denis, F., Courvalin, P., Lambert, T., 2000, Molecular characterization of integrons I *Acinetobacter baumannii*: description of a hybrid class 2 integron, *Antimicrob Agents Chemother*, 44, 2684–8.
- Poole, K., 2004, Resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61 (17), 2200-2223.
- Qiao, L.D., Chen, S., Yang, Y., Zhang, K., Zheng, B., Guo, H.F., Tian, Y., 2013, Characteristics of urinary tract infection pathogens and their in vitro susceptibility to antimicrobial agents in China: data from a multicenter study, *BMJ open*, 3 (12), e004152.
- Reygaert, W.C., 2018, An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria, *AIMS microbiology*, 4 (3), 482-490.

- Rossignol, L., Vaux, S., Maugat, S., Blake, A., Barlier, R., Heym, B., Coignard, B., 2017, Incidence of urinary tract infections and antibiotic resistance in the outpatient setting: a cross-sectional study, *Infection*, 45(1), 33-40.
- Sanders, C.C., Sanders, W.E., 1992, Beta-lactam resistance in Gram negative bacteria: global trends and clinical impact, *Clin Infect Dis*, 15 (5), 824-39.
- Sanguinetti, M., Posteraro, B., Spanu, T., Ciccaglione, D., Romano, L., Fiori, B., Nicoletti, G., Zanetti, S., Fadda, G., 2003, Characterization of clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Italy by the BD phoenix extended-spectrum beta-lactamase detection method, *J Clin Microbiol*, 41, 1463-8.
- Saygı, Ş., Battal, D., Özlen Şahin, N., 2012, Çevre ve İnsan Sağlığı Yönünden İlaç Atıklarının Önemi, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 82-90.
- Schultsz, C., Geerlings, S., 2012, Plasmid-mediated resistance in *Enterobacteriaceae*. *Drugs*, 72, 1-16.
- Sevim, A., Sevim, E., 2019, The culture-dependent and culture-independent analysis for determination of bacterial diversity within *Limnatis nilotica* (Clitellata: Hirudinea), *Biologia*, 74 (6), 639-648.
- Shi, H., Sun, F., Chen, J., Ou, Q., Feng, W., Yong, X., Xia, P., 2015, Epidemiology of CTX-Mtype extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing nosocomial- *Escherichia coli* infection in China, *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 14 (1), 1-10.
- Singh, A., Shahid, M., Sobia, F., Khan, H.M., 2012, Occurrence and molecular epidemiology of Bla CTX-M, including co-occurrence of *bla*<sub>TEM</sub> and *bla*<sub>SHV</sub> genes, and *sulI* association in Indian *Enterobacteriaceae*, *Int J Antimicrob Agents*, 39 (2), 184-5.
- Svanborg, C., Godaly, G., 1997, Bacterial virulence in urinary tract infection, *Infect Dis Clin North Am*, 11, 513-30.
- Szabó, O., Gulyás, D., Szabó, N., Kristóf, K., Kocsis, B., Szabó, D., 2018, Plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae* from urine clinical samples, *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 65 (3), 255-265.
- Taşbakan Işıkgöz, M., 2014, İdrar yolu enfeksiyonları ve akılcı antibiyotik kullanımı, *ANKEM Derg*, 28 (2), 178-181.
- Tenover, F.C., 1996, The Challenges of Emerging Infectious Diseases, *JAMA*, 275 (4), 300-310.
- Türkoğlu, F.K., 2008, *Pediatric Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi ve Tutumlarının Araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Sağlık

- Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
- URL-1, <https://www.futurelearn.com/info/courses/introduction-to-bacterial-genomics/0/steps/45329> (Ziyaret Tarihi: 28.06.2022)
- Kulkarni, K.V., Kulkarni, S.S., Pathak, N., 2018, In Vitro Activity Of Colistin Against Multidrug Resistant Gram Negative Bacilli (MDR Gnb) Isolated From Various Clinical Specimens.
- Wayne, P., 2015, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement M100-S25, *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 240.
- Yagel, Y., Nativ, H., Riesenber, K., Nesher, L., Saidel-Odes, L., Smolyakov, R., 2018, Outcomes of UTI and bacteriuria caused by ESBL vs. non-ESBL *Enterobacteriaceae* isolates in pregnancy: a matched case-control study, *Epidemiology and Infection*, 146, 771-774.
- Yazdi, M., Nazemi, A., Mirinargasi, M., Jafarpour, M., Sharifi, S.H., 2012, Genotypic versus phenotypic methods to detect extended-spectrum beta lactamases (ESBLs) in uropathogenic *Escherichia coli*, *Ann Biol Res*, 3, 2454-8.
- Yüce, A., 2001, Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmalar, *Klinik Dergisi*, 14 (2), 41-46.
- Zeynudin, A., Pritsch, M., Schubert, S., Messerer, M., Liegl, G., Hoelscher, M., Wieser, A., 2018, Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of CTX-M type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases among clinical isolates of gram-negative bacilli in Jimma, Ethiopia, *BMC infectious diseases*, 18 (1), 1-10.
- Znati, F., Benbelaid, F., Khadir, A., Bellahsene, C., Bendahou, G., 2014, Antimicrobial effects of three essential oils on multidrug resistant bacteria responsible for urinary infections, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4, 15-18.

## EKLER

### EK-1. 16S RNA Gen Dizileri

#### *Proteus mirabilis* Pr3 16S rRNA Gen Dizisi

TGCGGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTGACGA  
GCGGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCCCGATAGAGGGGGATAACTACTGGA  
AACGGTGGCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCTTGCA  
CTATCGGATGAACCCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAAGGCTCACCTAGGCGAC  
GATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACT  
CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATG  
CCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGTGAT  
AAGGTTAATACCCTTATCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGC  
CAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCG  
CACGCAGGCGGTCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATC  
TGAAACTGGTTGGCTAGAGTCTTGTACAGGGGGGTAGAATTCATGTGTAGCGGTGAAAT  
GCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCGTGGACAAAGAGTGACGC  
TCAGCTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAA  
ATGATGTCGATTCCGAGGTTGTGGTTATGAACTGCGGCTTCTGGAGCTAACGCGTTAAAT  
CGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGC  
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGA  
CATCCAGCGAATCCTTTAGAGATAGAGGTGTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGGTGCTGC  
ATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC  
TTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACC  
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGT  
GCTACAATGGCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGAACCTCATAAAGT  
CTGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAAT  
CGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACAC  
CATGGGAGTGGGTTGCAAAGAAGTAGTGTAGCTTAACCTTCGGGATTGGCGCTACCACT  
TTGATCA

***Citrobacter koseri* Pr4 16S rRNA Gen Dizisi**

GCAGCTTGCTGCTTCGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTG  
ATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAA  
GAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTGTGGTG  
GGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACAC  
TGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAA  
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGT  
ACTTTCAGCGGGGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCAG  
AAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTA  
ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCC  
CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGGCAGGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGTA  
GAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGC  
GGCCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG  
ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTG  
GCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAA  
CAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAAC  
GCCAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTGGCAGAGATGCCTTGGTGCCTT  
CGGGAAGTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGT  
TAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGGGA  
AAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCC  
CTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGACCTCGCG  
AGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCC  
ATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGC  
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGAAGTA

***Citrobacter koseri* Pr5 16S rRNA Gen Dizisi**

AAGCAGCTTGCTGCTTCGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCC  
TGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCA  
AAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTTGTGG  
TGGGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCAC  
ACTGGAECTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA  
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA  
GTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGC  
AGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGT  
TAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTAAAGTCAGATGTGAAATC  
CCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGGCAGGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGG  
TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG  
GCGGCCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCCAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT  
AGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCG  
TGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTAAA  
ACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCA  
ACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTGGCAGAGATGCCTTGGTGCC  
TTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGG  
GTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGGGAACT  
CAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGG  
CCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGACCTCG  
CGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACT  
CCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGG  
GCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGAAGTA

***Proteus mirabilis* Pr6 16S rRNA Gen Dizisi**

GCTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTGACGAGCGGCGG  
AGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCCCGATAGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTGG  
CTAATACCGCAAATGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCTTGCACTATCGGAT  
GAACCCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAAGGCTCACCTAGGCAACGATCTCTAG  
CTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGG  
AGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGT  
ATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTTACGCGGGGAGGAAGGTGATAAAGTTAA  
TACCCTTGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCC  
GCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGG  
CGGTCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATCTGAAACTG  
GTTGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG  
ATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGC  
GAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTC  
GATTTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTCTGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCC  
TGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGG  
TGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGC  
GAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGT  
CGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTT  
GTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAG  
GTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATG  
GCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGAACTCATAAAGTCTGTCTAG  
TCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCA  
GAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGCACACCATGGGAGT  
GGGTTGCAAAGAAGTAGTGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTAC

***Proteus mirabilis* Pr8 16S rRNA Gen Dizisi**

GCAGGCGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTGAC  
GAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCCGATAGAGGGGGATAACTACTG  
GAAACGGTGGCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCTTG  
CACTATCGGATGAACCCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAAGGCTCACCTAGGCA  
ACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAG  
ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC  
ATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGT  
GATAAGGTTAATACCCTTGTCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCG  
TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGGGCGTAAA  
GCGCACGCAGGCGGTCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGC  
ATCTGAAACTGGTTGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGCGGTGA  
AATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGA  
CGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTG  
TAAACGATGTTCGATTTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTCTGGAGCTAACGCGTTA  
AATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCC  
CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCT  
TGACATCCAGCGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGGTG  
CTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCA  
ACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATA  
AACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACAC  
ACGTGCTACAATGGCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGAACTCATA  
AAGTCTGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAG  
TAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTC  
ACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGGCGCTACC  
ACTTG



***Proteus mirabilis* Pr9 16S rRNA Gen Dizisi**

ATGGCGGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTGAC  
GAGCGGCGGAGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCCGATAGAGGGGGATAACTACTGG  
AAACGGTGGCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCTTGC  
ACTATCGGATGAACCCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAAGGCTCACCTAGGCA  
ACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAG  
ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC  
ATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGT  
GATAAGGTTAATACCCTTGTC AATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCG  
TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTA CTGGGCGTAAA  
GCGCACGCAGGCGGTCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGC  
ATCTGAAACTGGTTGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGCGGTGA  
AATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGA  
CGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTG  
TAAACGATGTTCGATTTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTCTGGAGCTAACGCGTTA  
AATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAA ACTCAAATGAATTGACGGGGGCC  
CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCT  
TGACATCCAGCGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGGTG  
CTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA  
ACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATA  
AACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACAC  
ACGTGCTACAATGGCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGAACTCATA  
AAGTCTGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAG  
TAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTC  
ACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAG

***E. coli* Pr10 16S rRNA Gen Dizisi**

CAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCCCGA  
TGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCAAACGTTCGCAGACCAAAGAG  
GGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGG  
TAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCCACTGGA  
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGC  
GCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT  
CAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGCAGAAGA  
AGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCG  
GAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGG  
CTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGGCAAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAAT  
TCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC  
CCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC  
CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTT  
CCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAC TCAA  
ATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCG  
AAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTTCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGG  
GAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTAA  
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGGAACTCAAAG  
GAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT  
ACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGA  
GCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG  
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT  
GTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAG

***Proteus mirabilis* Pr11 16S rRNA Gen Dizisi**

GCTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTGACGAGCGGCGG  
ACGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCCGATAGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTG  
GCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCTTGCACTATCGG  
ATGAACCCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAAGGCTCACCTAGGCGACGATCTCT  
AGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACG  
GGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGT  
GTATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGTGATAAGGTT  
AATACCCTTATCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAG  
CCGCGGTAATACGGAGGGTGCCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCA  
GGCGGTCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATCTGAAAC  
TGGTTGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG  
AGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGT  
GCCAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATG  
TCGATTTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTCTGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCG  
CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGC  
GGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCA  
GCCAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAGCGCTGAGACAGGTGCTGCATGGCT  
GTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCC  
TTTGTGGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGG  
AAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACA  
ATGGCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGAACTCATAAAGTCTGTGCG  
TAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGA  
TCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCCGGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGG  
GGAGTGGGTTGCAAAAG

***E. coli* Pr12 16S rRNA Gen Dizisi**

GCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCCCG  
ATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAA  
GAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTG  
GGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACT  
GGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATG  
GGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTAC  
TTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGCAGAA  
GAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAAT  
CGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCG  
GGCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGGCAAGCTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGA  
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG  
CCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT  
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCGACTTGGAGGTTGTGCCCTGAGGCGTGGCT  
TCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCA  
AATGAATTGACGGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGC  
GAAGAACCTTACCTTGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTACAGATGAGAATGTGCCTTCT  
GGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTA  
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTCTCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCTCGAACTCAA  
GGAGACAGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCAC  
TACGACCAGGGCTACACACCTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAG  
AGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCAT  
GAAGTCGGAATCGCTGGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCT  
TGTACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCT  
TCGGGAGGGCGCT

***E. coli* Pr13 16S rRNA Gen Dizisi**

GCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCCC  
ATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCAAACGTCGCAGACCAAAGA  
GGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGG  
GTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGG  
AACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGG  
CGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTT  
TCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGCAGAAG  
AAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATC  
GGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGG  
GCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAA  
TTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGC  
CCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCCAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA  
CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCT  
TCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCA  
AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGC  
GAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTTCAGAGATGAGAATGTGCCTTCG  
GGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTA  
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGGAACTCAAA  
GGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCT  
TACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAG  
AGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCAT  
GAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGGCC  
TTGGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAG

***Proteus mirabilis* Pr17 16S rRNA Gen Dizisi**

GGCATGCGGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTG  
ACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCCGATAGAGGGGGATAACTAC  
TGAAACGGTGGCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCT  
TGCACTATCGGATGAACCCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAAGGCTCACCTAGG  
CAACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCC  
AGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAG  
CCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTACAGCGGGGAGGAAG  
GTGATAAGGTTAATACCCTTATCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTC  
CGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTA  
AAGCGCACGCAGGCGGTCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAAT  
TGCATCTGAAACTGGTTGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGCGG  
TGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGAC  
TGACGCTCAGGTGCCAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG  
CTGTAAACGATGTCGATTTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTCTGGAGCTAACGCG  
TTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGG  
GCCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTAC  
TCTTGACATCCAGCGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGG  
TGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG  
CAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGA  
TAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTAC  
ACACGTGCTACAATGGCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGAACTCA  
TAAAGTCTGTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCT  
AGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCC  
TCACACCATGGG

***Proteus pennari* Pr19 16S rRNA Gen Dizisi**

CTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGAAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTGACGAGCGGCGGA  
CGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCCCGATAGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTGG  
CTAATACCGCATGACGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCTTGCGCTATCGGA  
TGAACCCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGAGGTAAAGGCTCACCTAGGGCAGGATCTCTA  
GCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGG  
GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTG  
TATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGTGATAAAGTTA  
ATACCTTTATCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGC  
CGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAG  
GCGGTCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATCTGAAACT  
GGTTGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA  
GATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTG  
CGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT  
CGATTTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTCTGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGC  
CTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCG  
GTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAG  
CGGATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTG  
TCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCAGAACGAGCGCAACCCTTATCCTT  
TGTTGCCAGCGCGTGATGGCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAA  
GGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAAT  
GGCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGAACTCATAAAGTCTGTGTA  
GTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATC  
AGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCAGGCTTGTACACACCGCCCCGTCACACCATGGG

***Klebsiella pneumoniae* Pr20 16S rRNA Gen Dizisi**

CATGCAGTCGAGCGGTAGCACAGAGAGCTTGCTCTCGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTG  
AGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATA  
CCGCATAATGTCGCAAGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCATGCCATCAGATGTGCC  
CAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCAACGATCCCTAGCTGGT  
CTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCA  
GCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAA  
GAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATAAAGTTAATAACC  
TTGTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGT  
AATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTC  
TGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTAACCTGGGAACTGCATTTGAAACTGGCAAG  
CTAGAGTCTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTG  
GAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAG  
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGATTTG  
GAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGA  
GTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGC  
ATGTGGTTTAATTCGGTGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTT  
TCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAG  
CTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCC  
AGCGGTTAGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGA  
TGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACCTGCTACAATGGCATATA  
CAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTAAGTCGTAGTCCGGAT  
TGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTGGGAATCGCTGGTAATCGTAGATCAGAATGCT  
ACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGC  
AAAAGAAGTAGTTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCACTTG



## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	HUSAM MAHDİ SALEH ALSHABBANİ
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input type="checkbox"/> T.C. <input checked="" type="checkbox"/> Diğer:

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Al-Qadisiyah Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2015

Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Programı	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Mezuniyet Tarihi	2022

Doktora	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	Program Adı
Mezuniyet Tarihi	

Makale ve Bildiriler
1. Alshabbani, H.M.S., Milletli Sezgin, F., Sevim, E. Molecular Characterization of Antibiotic Resistance Genes in <i>Enterobacteriaceae</i> Isolated From Urinary Tract Infections (UTI). 9. Uluslararası Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları Kongresi, 18-19 Mart 2022. (Online-Sözlü Sunum).