**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERİTESİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

# İNSAN DIŞKISINDAN İZOLE EDİLEN AMPİSİLİN DİRENÇLİ *Escherichia coli* SUŞLARINDAKİ ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ

**Soner YILDIZ**

**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERİTESİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

# İNSAN DIŞKISINDAN İZOLE EDİLEN AMPİSİLİN DİRENÇLİ *Escherichia coli* SUŞLARINDAKİ ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ

**Soner YILDIZ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**RİZE/2024**

**ONAY**

# BEYAN

Bu tez çalışmasının, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlandığını ve yazıldığını; tezin, akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak özgün bir bilimsel araştırma olarak gerçekleştirildiğini; tezde yer alan ve bu çalışma ile elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumların kaynak gösterildiğini ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını; ayrıca, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici herhangi bir davranışta bulunmadığımı beyan ederim.

*Dr. Soner YILDIZ*

**EK 1.** Etik Kurul Onayı

T.C.
**RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ**
**Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı**

K - Q
TSE-ISO-EN
9000

**Sayı** : E-40465587-050.01.04-723 07.06.2023
**Konu** : Etik Kurul

**Sayın Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ**

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz "**İnsan Dışkısından İzole Edilen Escherichia coli Suşlarındaki Antibiyotik Direncinin Moleküler Analizi**" isimli başvurunuz etik kurulumuz yönergesine göre 01.06.2023 tarihinde yapmış olduğu toplantıda incelenmiş olup, 2023/138 karar numarası ile bilimsel ve etik yönden uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini saygılarımla rica ederim.

**Doç. Dr. Tahsin Gökhan TELATAR**

**Başkan**

*Bu belge güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.*
***Belge Doğrulama Kodu : b0bb25ef5732*** ***Belge Takip Adresi: http://ebys.erdogan.edu.tr/EBYS/eimzadogrulama***

Fener Mah. Zihni Derin Yerleşkesi 53100 Rize / TÜRKİYE
Telefon No :+90 (464) 223 61 26 Faks No :+90 (464) 223 53 76
e-Posta : İnternet Adresi:http://www.erdogan.edu.tr/
Kep Adresi:

Bilgi için : BURAK HANKAYA
Bilgisayar İşletmeni

# TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca her daim desteğini hissetiğim, bana mesleğimi öğreten çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi İlkay Bahçeci' ye; birlikte çalışma fırsatı bulduğum şu an uzman olan değerli kidemlilerim Dr. Nuray ARSLAN'a, Dr. Yunus Emre İBİk'e, Dr. Hamiyet Büşra GÜNDOĞDU'ya, Dr. Mustafa Özcan'a ve Dr. Ömer Faruk DURAN'a, Dr. Esra KARACA SEMERCİ'ye ve Dr. Duygu ASLAN'a; eş kıdemim ve değerli dostum Dr. Yunus Emre ALPDOĞAN'a ve değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Sefa SALIK'a, Dr. Abdurrahman ATAK'a, Dr. Nur Betül YAŞAR BÖLÜKBAŞ'a, Dr. Merve ÖZTÜRK BEŞBAŞ'a, Dr. Ayşenur BALTACIOĞLU'na, Dr. Elif Başak KARAGÖZ'e, Dr. Mehmet BAŞOĞLU'na ve Dr. Burçak GÖNÜLTAŞ'a teşekkür ederim.

Bu çalışmanın her aşamasında yanımda olan ve bilgi birikiminden faydalandığım değerli hocam Prof. Dr. Osman ÖZGÜMÜŞ'e; laboratuvarda deneyimlerini paylaşarak bana her zaman destek olan Dr. Erva RAKICI ve Dr. Nebahat EJDER'e; kıymetli hocalarım Prof. Dr. Zihni Acar YAZICI ve Doç. Dr. Kazım ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana destek olan annem Ahsen YILDIZ'a, babam Hüseyin YILDIZ'a ve abim Caner YILDIZ'a, asistanlığımın başından beri bana yoldaşlık eden sevgili muhabbet kuşum Behlül'e, dualarıyla bana destek veren kayınvalidem Keriman İLERİ'ye, varlığıyla hayatıma neşe katan ve hep yanımda olan değerli eşim Latife Merve YILDIZ'a teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Bu tıpta uzmanlık tezini TTU-2023-1511 numaralı proje kodu ile Araştırma Projesi olarak destekleyen RTEÜ-BAP birimine teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

**İÇ KAPAK SAYFASI**

**ONAY**

**BEYAN**

**TEŞEKKÜR**

**İÇİNDEKİLER** ..... vi
**TABLOLAR DİZİNİ** ..... viii
**ŞEKİLLLER DİZİNİ** ..... ix
**RESİMLER DİZİNİ** ..... x
**KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ** ..... xi
**ÖZET** ..... xiv
**ABSTRACT** ..... xvi
**1. GİRİŞ ve AMAÇ** ..... xvi
**2. GENEL BİLGİLER** ..... 4
2.1. Mikrobiyota ..... 4
2.1.1. *Escherichia coli*' nin Tarihçesi ..... 5
2.1.2. *Escherichia coli*' nin Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri ..... 6
2.1.3. *Escherichia coli*' nin Klinik Önemi ..... 7
2.2. Antibiyotikler ..... 7
2.2.1. Hücre zarı permeabilitesini arttıranlar ..... 9
2.2.2. Protein sentez inhibitörleri ..... 9
2.2.3. Nükleik asit sentez inhibitörleri ..... 11
2.2.4. Antimetabolitler ..... 11
2.2.5. Hücre duvarı sentez inhibitörleri ..... 12
2.3. Antimikrobiyal Direnç ..... 15
2.3.1. Antimikrobiyal Direncin Ortaya Çıkma ve Yayılma Mekanizmaları ..... 16
2.3.2. Yatay Gen Transferi ..... 19
2.3.2. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları ..... 24
2.4. Tek Sağlık ..... 31
**3. MATERYAL VE METOD** ..... 33
3.1. Etik Kurul Onayı ..... 33

3.2. Çalışmanın Özellikleri ..... 33
3.3. Çalışmaya Dahil Edilen Gruplar ..... 33
3.3.1. Çalışmaya Dahil Edilme/Edilmeme Ölçütleri ..... 33
3.4. Ampisiline Dirençli (Amp$^r$) *E. coli* Suşlarının Seçimi, İdentifikasyonu ve Saklanması ..... 34
3.5.1. Çift Disk Sinerji Testiyle GSBL Tayini ..... 34
3.6. Kromozomal DNA izolasyonu ..... 35
3.7. Kullanılan Oligonükleotid Primerler ve Özellikleri ..... 36
3.8. PZR ile Direnç Genlerinin ve İntegronların Gösterilmesi ..... 36
3.8.1. Agaroz Jel Elektroforezi ..... 38
3.9. İntegron Gen Kasetlerinin DNA Dizi Analizleri ..... 38
3.9.1. İntegronların Agaroz Jelden Saflaştırılması ..... 38
3.9.2. DNA Dizi Analizi ve Biyoinformatik ..... 39
3.10. İstatistiksel Analiz ..... 39
**4. BULGULAR** ..... 40
4.1. Hastaların Demografik Özellikleri ..... 40
4.2. İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıkları ..... 40
4.3. Beta Laktamaz Genleri ve İntegronlar için PZR ..... 45
4.4. *intI1* ve *intI2* İçin PZR' ler ..... 45
4.6. İntegronlar ve İçerdikleri Gen Kasetleri ..... 47
**5. TARTIŞMA** ..... 52
**6. SONUÇ VE ÖNERİLER** ..... 60
**7. KAYNAKLAR** ..... 62
**8. ÖZGEMİŞ** ..... 80

# TABLOLAR DİZİNİ

**Tablo 1**. Plazmid aracılı genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar ..... 28
**Tablo 2.** CTX-M grupları ve sık görülen bazı varyantlar..... 30
**Tablo 3.** PZR deneylerinde kullanılan oligonükleotid primerleri..... 36
**Tablo 4.** PZR' lerde kullanılan döngü koşulları ..... 37
**Tablo 5**. Reaksiyon içeriği..... 37
**Tablo 6.** Ampisiline dirençli E. coli suşlarının VITEK 2 ile saptanan antibiyotik duyarlılık sonuçları..... 41
**Tablo 7.** $Amp^r$ E. coli suşlarında tespit edilen beta laktamaz geni sıklığı..... 45
**Tablo 8.** İntegron içeren suşlar ile içermeyen suşların antimikrobiyal direnç oranlarının karşılaştırması..... 46
**Tablo 9**. İzolatlardaki beta laktamaz genleri, integronlar ve DNA dizi analiz sonuçları ..... 49

# ŞEKİLLLER DİZİNİ

**Şekil 1**. Antibiyotiklerin hedef bölgeleri ..... 9
**Şekil 2.** Sınıf 1 integronun yapısı..... 23
**Şekil 3.** Sınıf 2 integronun yapısı..... 23
**Şekil 4.** Beta laktamazların sınıflandırılması..... 27
**Şekil 5.** Tek sağlık kavramının şematik gösterimi..... 32
**Şekil 6.** Amp$^r$ *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları oranları. ..... 44
**Şekil 7.** Sınıf 1 ve sınıf 2 integron içeren Amp$^r$ *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık oranları..... 46

# RESİMLER DİZİNİ

**Resim 1.** Çift disk sinerji testi ..... 44

**Resim 2.** Beta laktamaz genleri (*bla*$_{TEM}$, *bla*$_{CTX-M}$ ve *bla*$_{SHV}$) ile sınıf 1 ve sınıf 2 integronların integraz genlerinin (*intI1* ve *intI2*) PZR amplikonları..... 45

**Resim 3.** Suşlardaki sınıf integronların değişken bölgelerinin agaroz jel elektroforezi.. ..... 48

# KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

**Kısaltmalar**

| | |
|---|---|
| aad | Aminoglikozid Adeniltransferaz |
| AMC | Amoksisilin/Klavulonik Asit |
| AMP | Ampisilin |
| $Amp^r$ | Ampiline Dirençli |
| AK | Amikasin |
| bç | Baz Çifti |
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool |
| CAZ | Seftazidim |
| CFU | Koloni Oluşturan birim |
| CIP | Siprofloksasin |
| CRO | Seftriakson |
| CS | Korunmuş Bölge |
| CTX | Sefotaksim |
| CXM | Sefuroksim |
| ÇDST | Çift Disk Sinerji Testi |
| DHFR | Dihidrofolat Redüktaz |
| DNA | Deoksiribo Nükleik Asit |
| DSÖ | Dünya Sağlık Örgütü |
| dNTP | Deoksinükleotid |
| EDTA | Etilen Diamintetra Asetik Asit |
| EMB | Eozin Metilen Blue |
| ERT | Ertapenem |
| EUCAST | European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing |
| FDA | Food and Drug Administration |
| FEP | Sefepim |
| FOX | Sefoksitin |
| GİS | Gastro İntestinal Sistem |
| GN | Gentamisin |

| | |
|---|---|
| GSBL | Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz |
| HGE | Hareketli Genetik Elemanlar |
| Hfr | Yüksek Rekombinasyon Sıklığı |
| IS | İnsersiyon Sekansı |
| intI1 | İntegraz 1 Geni |
| intI2 | İntegraz 2 Geni |
| lnu | Linkozamid Nükleotidiltransferaz |
| LB | Luria Bertani |
| MBL | Metallo Beta Laktamaz |
| MEM | Meropenem |
| OMP | Dış Zar Proteini |
| OXA | Oksasilin |
| PABA | Para Aminobenzoik Asit |
| PBP | Protein Bağlayan Protein |
| pH | Hidrojenin İyonik Gücü |
| PZR | Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| RNA | Ribo Nükleik Asit |
| RTEÜ | Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi |
| SXT | Trimetoprim/Sülfametoksazol |
| TAE | Tris Asetikasit EDTA |
| TE | Tris EDTA |
| TMP | Trimetoprim |
| Tn | Transpozon |
| TZP | Piperasilin/Tazobaktam |
| UV | Ultraviyole |
| vb | ve benzeri |
| YGA | Yatay Gen Transferi |

**Simgeler**

| | |
|---|---|
| ° | Santigrad Derece |
| % | Yüzde |
| & | ve |

| | |
|---|---|
| kb | Kilobaz |
| µg | Mikrogram |
| µl | Mikrolitre |
| mM | Milimol |
| mL | Mililitre |
| rpm | Revolutions Per Minute |

**Formüller**

| | |
|---|---|
| HCl | Hidroklorik Asit |
| $H_2S$ | Hidrojen Sülfür |
| $MgCl_2$ | Magnezyum Klorür |
| NaCl | Sodyum Klorid |

# ÖZET


## İnsan Dışkısından İzole Edilen Ampisilin Dirençli *Escherichia coli* Suşlarındaki Antibiyotik Direncinin Moleküler Analizi

Antibiyotik direnci, gelişmekte olan ülkelerde yaygın bir sorun olup, intestinal sistemde bulunan kommensal bakterilerden patojen mikroorganizmalara hareketli genetik elemanlar (plazmidler, integronlar vb.) ile aktarılarak insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. *Enterobacterales* familyası üyelerinde antimikrobiyal direncin yüksek oranda gözlenmesi ve özellikle *E. coli* gibi intestinal sistemde baskın türlerin direnç genlerini içermesi antimikrobiyal direncin yayılmasında potansiyel risk oluşturmaktadır. Antimikrobiyal direnç hayvanlarda ve çevre mikrobiyolojisinde de sorun yaratmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği "Tek Sağlık" yaklaşımı ile bu sorunun çözülmesi için çeşitli disiplinlerin birlikte çalışması gerekmektedir. Bu çalışma, insan dışkısından izole edilen ampisiline dirençli ($Amp^r$) *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını ve beta laktamaz direnç genlerini tespit etmeyi amaçlamaktadır. Çalışmada Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Mart – Mayıs 2023 tarihleri arasında gönderilen gaita örneklerinden izole edilen 65 adet $Amp^r$ *E. coli* suşu kullanıldı. Suşların tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıkları VİTEK 2 sistem ile yapıldı ve GSBL üretimleri çift disk sinerji testi ile tarandı. Toplam DNA ekstraksiyonları fenol:kloroform:izoamil alkol yöntemi ile yapıldıktan sonra beta laktamaz genleri (*bla*$_{TEM}$, *bla*$_{SHV}$ ve *bla*$_{CTX-M}$) ile sınıf 1 ve sınıf 2 integron varlıkları polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırıldı. İntegronların değişken bölgelerinin amplikonlarının DNA dizileme analizi ile antibiyotik direnç gen kasetleri belirlendi. Suşların %60,6'sının amoksisilin/klavulonata, %63,1' inin siprofloksasine ve %63,1' inin trimetoprim/sülfametoksazole dirençli olduğu görüldü. Ayrıca aminoglikozid grubu (amikasin ve gentamisin) antibiyotiklere %1,5 oranında direnç saptanırken karbapenem grubu (imipenem ve meropenem) antibiyotiklere karşı direnç görülmedi. Suşların 19' unun (%29,2) GSBL ürettiği tespit edildi. Suşların 39' unun (%60) *bla*$_{TEM}$, birinin (%1,5) *bla*$_{SHV}$ ve 16' sının (%24,6) *bla*$_{CTX-M}$ genleri taşıdığı saptandı. Sınıf 1 ve sınıf 2 integron içerikleri sırası ile 37 suş (%56,9) ve bir suş (%1,5) olarak bulundu. İntegronların 3 tanesi boş olarak saptanırken diğerlerinde *aadA1*, *dfrA7*, *dfrA17*, *bla*$_{OXA-1}$ ve *lnuF* gen kasetleri tespit edildi. Bu çalışmanın sonuçları,

antimikrobiyal direncin moleküler epidemiyolojisine ve dirençle mücadelede yapılacak diğer bilimsel çalışmalara "Tek Sağlık" çerçevesinde bilgi zemini açısından katkı sağlayacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal direnç, GSBL, Direnç genleri, Gen kasetleri, Tek Sağlık

# ABSTRACT

# ABSTRACT

**Molecular Analysis of Antibiotic Resistance in Ampicillin-Resistant *Escherichia coli* Strains Isolated from Human Faeces**

Antibiotic resistance is a common issue in developing countries, posing a significant risk to human health by the transfer of mobile genetic elements (such as plasmids and integrons) from commensal bacteria to pathogenic microorganisms in the intestinal system. The high incidence of antimicrobial resistance in the members of *Enterobacterales* family, particularly in dominant species like *E. coli* in the intestinal system, is a potential risk factor for the spread of resistance genes. Antimicrobial resistance poses challenges in animal and environmental microbiology as well. The World Health Organization's "One Health" approach recommends collaborative efforts across various disciplines to address this issue. This study aims to determine the antibiotic susceptibilities and beta-lactamase resistance genes of ampicillin resistant ($Amp^r$) *E. coli* strains isolated from human stool samples. The study included 65 $Amp^r$ *E. coli* strains isolated from stool samples sent to the Medical Microbiology Laboratory of Rize Education and Research Hospital between March and May 2023. The identification and antimicrobial susceptibilities of the strains were determined using the VITEK 2 system, and ESBL production was screened by the double disk synergy test. Total DNA extractions were performed using the phenol:chloroform:isoamyl alcohol method, followed by PCR analysis to investigate the presence of beta lactamase genes ($bla_{TEM}$, $bla_{SHV}$, and $bla_{CTX\text{-}M}$) and class 1 and class 2 integrons. Antibiotic resistance gene cassettes in the variable regions of the integrons were identified by DNA sequencing. The results showed that 60.6% of the strains were resistant to amoxicillin/clavulanate, 63.1% to ciprofloxacin, and 63.1% to trimethoprim/sulfamethoxazole. Additionally, 1.5% of the strains were resistant to aminoglycosides (amikacin and gentamicin), while no resistance was observed against carbapenem antibiotics (imipenem and meropenem). Nineteen strains (29.2%) produced ESBL. Among the strains, 39 (60%) harbored $bla_{TEM}$, one (1.5%) harbored $bla_{SHV}$, and 16 (24.6%) harbored $bla_{CTX\text{-}M}$ genes. The presence of class 1 and class 2 integrons was detected in 37 strains (56.9%) and one strain (1.5%), respectively. Three

integrons were found to be empty, while others carried resistance gene cassettes such as *aadA1, dfrA7, dfrA17,* $bla_{\text{OXA-1}}$, and *lnuF*. The results of this study will contribute to the molecular epidemiology of antimicrobial resistance and provide a valuable information for further scientific studies in combating resistance within the "One Health" framework.

**Keywords:** Antimicrobial resistance, ESBL, Resistance genes, Gene cassettes, One Health

# 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Antibiyotik direnci, gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada bakteri izolatlarında oldukça yaygındır (1). İnsan intestinal sistemi, kommensal bakterilerde bulunan antimikrobiyal direnç genlerinin patojen mikroorganizmalara aktarılabildiği bir ortam olarak bilinmektedir. Bu süreç, özellikle yatay gen transferi mekanizmaları (konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon) aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu genlerin yayılması, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği ve bolluğu nedeniyle oldukça yaygındır ve insan sağlığı için önemli bir risk oluşturmaktadır (2). Özellikle *Escherichia coli (E. coli)* gibi fakültatif anaerop türlerde bulunan direnç genleri, bu aktarımın önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Bu tür bakterilerdeki direnç genlerinin varlığı, toplumda bulunan diğer bakterilerin direnç genleri hakkında öngörüde bulunmada faydalıdır. *Escherichia coli*'deki direnç genlerinin varlığı ve bu genlerin diğer bakterilere yatay gen transferi yoluyla aktarılması üzerinde durulan çalışmalarda, farklı ekolojik ortamlardan (hastane atıkları, su arıtma tesisleri, çevresel örnekler vb.) toplanan *E. coli* izolatlarının genetik analizleri yapılmış ve direnç genlerinin yayılımı incelenmiştir. Özellikle mobil genetik elemanlar gibi mekanizmalar aracılığıyla bu genlerin yayılmasının, antibiyotik direncinin toplumda nasıl yayıldığına dair önemli bilgiler sağladığı belirtilmiştir (3, 4).

İnsan bağırsak sistemi, kommensal bakterilerin patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu engellediği bir savunma mekanizması olan "kolonizasyon direnci" ile önemli bir rol oynar. Kolonizasyon direnci, eksojen patojenlerin bağırsakta yerleşmesini ve endojen patojenlerin çoğalmasını önleyerek enfeksiyonlara karşı koruma sağlar. Bağırsak mikrobiyotasının patojen bakterilere karşı nasıl direnç sağladığını inceleyen bir çalışmada, bağırsak mikrobiyotasının çeşitli metabolitler üreterek ve bağırsak pH seviyesini düşürerek patojen bakterilerin büyümesini nasıl engellediği belirtilmiştir. Aynı zamanda, kommensal bakterilerin besinler ve bağırsak mukozasında yerleşim alanları için patojenlerle rekabet ederek kolonizasyon direncine katkıda bulunduğu açıklanmıştır (5, 6). Hastanelerde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerin baskısı, dirençli bakteri taşıyıcılığının artmasına ve bu patojenlerin neden olduğu fırsatçı enfeksiyonların yaygınlaşmasına yol açmaktadır. Bu konu üzerine yapılan güncel araştırmalardan biri, hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli

bir kısmının antibiyotik direncine sahip bakteriler tarafından meydana geldiğini ve bu durumun sağlık sistemine büyük bir yük getirdiğini vurgulamaktadır (7). Antibiyotik kullanımı antibiyotik direnç mekanizmalarının gelişmesine neden olan tek faktör olmasa da, mikrobiyotanın inhibisyonu ile dirençli gram negatif bakterilerin çoğalmasına ve seçilmesine sebep olmaktadır. Daha sonra enterik mikrobiyotada yer alan bu mikroorganizmalar direnç genleri için rezervuar görevi görüp endojen enfeksiyonlara sebep olabilmektedir (8).

Dışkı gibi klinik örnekler üzerinde yapılan çalışmalarda, *Enterobacterales* ailesine ait bakterilerde yüksek oranda antimikrobiyal dirence rastlandığı gözlemlenmiştir. Bu bakterilerin fekal taşıyıcılık oranlarının ve antimikrobiyal direnç profillerini araştıran çalışmalar bulunmaktadır (9-12). Bu çalışmalar, özellikle genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacterales* üzerinde yoğunlaşmıştır. Bir çalışmada, Gazze Şeridi'ndeki hastanelerde ve topluluklarda fekal örneklerde GSBL taşıyıcılığı incelenmiştir. Sonuçlar, fekal örneklerde ESBL üreten *Enterobacterales*' in yaygın olduğunu ve bu bakterilerin direnç genlerini yayma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (13).

Beta-laktam grubu antibiyotikleri hidrolize ederek etkisiz hale getiren beta-laktamaz enzimleri, antibiyotik direnç mekanizmaları arasında en önemli faktörlerden biridir. Bu enzimler, *Enterobacterales* ailesinin birçok üyesi tarafından üretilebilmektedir (14). Beta laktam antibiyotiklere direnç kazandırmaktan sorumlu olan TEM, SHV, OXA ve CTX-M gibi pek çok gen tipi bulunmaktadır. Bu genler trafından üretilen enzimler, ampisilin ve oksimino-beta laktamları hidrolize edebilir (15). Bahsi geçen genler, genellikle plazmit ve integron gibi hareketli gen parçaları üzerinde bulunur ve yatay gen transferi ile bakteriden bakteriye aktarılır. Bu süreç, antimikrobiyal direncin yayılmasına katkıda bulunur (16).

Antimikrobiyal direnç, yalnızca insanlarda değil, aynı zamanda hayvanlarda ve çevrede yoğun antibiyotik kullanımı sonucunda da gelişmektedir. Sonuç olarak çeşitli yollarla çevreye yayılan dirençli bakteriler antimikrobiyal etkinliği tehdit etmektedir. Bu sebeple antimikrobiyal direnç sorununu ‘Tek sağlık’ yaklaşımıyla ele alınmalıdır. Tek sağlık, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından tavsiye edilen ve antimikrobiyal direnç sorununa bütüncül yaklaşımı öneren bir kavramdır. Çeşitli ülkeler ve kuruluşlar

bu kavramı benimseyerek antimikrobiyal kullanımı düzenleyen politikalar oluşturulması, sürveyans sistemlerinin kurulması, enfeksiyon kontrolünün ve sanitasyonun iyileştirilmesi gibi önlemler almaktadır. Bu çabalar halk sağlığı uzmanları, veteriner hekimler, mikrobiyoloji uzmanları vb. pek çok disiplinin bir arada çalışmasıyla antimikrobiyal etkinliğin korunmasına katkıda bulunmayı amaçlamaktadır (17, 18).

Bu çalışmada, insan dışkısından izole edilen ampisilin dirençli *E. coli* ($Amp^r$ *E. coli*) suşlarının, diğer antibiyotik gruplarına olan duyarlılıkları, beta laktam direnç gen taşıyıcılıkları ve içerdikleri integron gen kasetlerinin moleküler analizleri amaçlanmıştır. Elde edilen bulguların, "Tek Sağlık" kapsamındaki ulusal ve uluslararası veri tabanlarına önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

# 2. GENEL BİLGİLER

## 2.1. Mikrobiyota

İnsan vücudunun çeşitli sistemlerinde bulunan mikroorganizmaların tamamı "mikrobiyota", bu mikroorganizmaların genetiği ise "mikrobiyom" olarak adlandırılır. Bu mikroorganizmalar bakteriler, mantarlar, ve virüsler dahil olmak üzere geniş bir çeşitlilik gösterir (19). Yapılan güncel çalışmalar intestinal mikrobiyotada yaklaşık 38 trilyon mikroorganizma bulunduğunu belirtmektedir. Bu mikroorganizmalar, özellikle bakteriler, insan hücreleriyle yaklaşık 1:1 oranında bulunmaktadır. Bu bilgi, bağırsak mikrobiyotasının insan sağlığı üzerindeki önemli rolünü vurgulamaktadır (20). Bu mikrobiyal hücreler, insan ile simbiyotik bir "süperorganizma" oluşturmaktadır. Mikrobiyom elemanları, milyonlarca farklı gene sahiptir ve bu genetik çeşitlilik, insan genomundan daha büyük bir proteom kodlama ve metabolom üretme potansiyeline işaret etmektedir (19). Bu veriler, insan vücudundaki mikroorganizmaların çeşitliliğini ve bu mikroorganizmaların genel sağlık üzerindeki etkilerini anlamamıza ışık tutmaktadır (21). Gönüllü 300 insan ile 2007 yılında başlayan insan mikrobiyom projesi ile vücudumuzda yaşayan tüm mikroorganizmaların belirlenmesi ve mikrobiyom değişikliklerinin hastalıklarla ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır (22).

Bireylerin mikrobiyota içeriği genellikle kararlılık göstermekteyken bu istikrar, çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Mikrobiyota bileşimini etkileyebilen önemli faktörlerden biri antibiyotik kullanımıdır. Aşırı antibiyotik kullanımı, dirençli patojenlerin artmasına neden olabilmektedir. Antibiyotik tedavisi sonucunda mikrobiyotada etkilenen türler, bireyler arasında farklılık göstermektedir. Antibiyotik kullanımı sonrası intestinal mikrobiyota yeniden şekillenirken bazı dirençli bakteri türleri kolonize olabilmektedir. Tüm bunlar, mikrobiyotada kalıcı değişikliklere ve bozulmalara yol açabilen durumlar oluşturmaktadır. Ayrıca, antibiyotiklerin tekrarlanan kullanımı, mikrobiyotayı antibiyotik dirençli genlerle dolu bir rezervuar haline getirebilmektedir (23).

İnsan mikrobiyotası deri, genitoüriner sistem, solunum yolu gibi pek çok bölgeye yerleşebilirken asıl çeşitlilik büyük yüzey alanı ve besin ögelerinin bolluğu sebebi ile gastrointestinal sistemde (GİS) görülmektedir. Özellikle kolon tüm mikrobiyotanın %70’ lik kısmına ev sahipliği yapmaktadır (24)

Yetişkin bir bireyde GİS mikrobiyotasının %90' dan fazlası, büyük çoğunluğunu anaerop türlerin oluşturduğu *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* filumlarına aittir. Bu türlerle beraber yararlı veya fırsatçı pek çok mikroorganizma da mikrobiyotada yer alır. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococci* ve *Propionobacteria* yararlı olan mikroorganizmalara örnek teşkil ederken; *Bacteriodes*, *Bacilli*, *Clostridia*, *Actinobacteria*, *Peptococci*, *Staphylococci*, *Streptococci* ve özellikle *Enterobacterales* fırsatçı grupta yer alır (25).

*Enterobacterales*, özellikle memelilerin intestinal sisteminde bulunan ve çeşitli bakteri türlerini içeren heterojen bir mikroorganizma ailesidir (26). Bu aileye mensup mikroorganizmalar arasında yer alan *Eschericiha coli (E. coli)*, gerek kolon mikrobiyotasındaki fakültatif aneroplar içerisinde baskın tür olması gerekse klinik örneklerden sıkça izole edilmesi sebebiyle önem arz etmektedir (27).

### 2.1.1. *Escherichia coli*' nin Tarihçesi

*Escherichia coli* oldukça eski bir tarihe sahiptir. Pediatri uzmanlığı yapan ve aynı zamanda bakteriyolog olan Theodor Escherich, 1885 yılında yenidoğan ve bebeklerin dışkı mikrobiyotası üzerine yaptığı bir çalışmada, Gram boyama ve fermentasyon metodlarını kullanarak saf kültürden bakteri izolasyonu gerçekleştirmiştir (28). Bu çalışma kapsamında, birbirinden farklı 19 bakteri türünü tanımlamış ve izole ettiği organizmaya "Bacterium coli commune" adını vermiştir (29). İsimde yer alan "coli," kelimesi "kalın bağırsak" anlamına gelir. Daha sonra, 1919 yılında Castellani ve Chalmer, bu bakteriye mucidinin ismini önermiş ve günümüzde *Escherichia coli* olarak adlandırılmasına öncülük etmişlerdir (30).

*Escherichia coli*, özellikle doğumdan sonraki saatler içinde gastrointestinal sisteme kolonize olma eğilimindedir. İlk suşlar genellikle annenin mikrobiyotasında mevut olan suşlarla serolojik olarak aynıdır. Bu durumun vajinal doğum sırasında meydana gelen bir bulaş sonucu olduğu belirtilmiştir. İlk zamanlar intestinal sistemde yer alan en baskın fakültatif anaerobik tür olarak tanımlanırken (31), sonraki dönemlerde bağırsak dışında da enfeksiyon oluşturma kapasitesine sahip olduğu keşfedilmiştir (30).

Mikrobiyoloji alanındaki uzmanlar, *E. coli*' nin birçok özelliği nedeniyle en sık çalışılan bakteri olduğunu vurgulamışlardır (28). Yirminci yüzyılın ilk çeyreğinde, *E. coli* üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır (32). Bu çalışmalar, 1940-1950 yılları arasında devam etmiş ve moleküler biyoloji alanında *E. coli*' nin öne çıkan bir model organizma haline gelmesine katkı sağlamıştır. 1940' lı yıllarda gerçekleştirilen temel çalışmalar ve 1950' lerde başlayan moleküler biyolojinin gelişimi, *E. coli*' yi ön plana çıkaran önemli gelişmelerdir. Bu süreç, *E. coli*' nin genetik kodu, transkripsiyon ve replikasyon gibi yaşamın temel yönlerinin ilk kez incelendiği organizma olmasını sağlamıştır. Bu sayede *E. coli* mikroorganizmaların biyolojisi, çeşitli metabolik özellikleri, virulans faktörleri, enzim ve metabolitleri üzerine yapılan araştırmalarda hem konvansiyonel hem de moleküler yöntemlerde model bakteri olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (33).

### 2.1.2. *Escherichia coli*' nin Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri

Fakültatif anaerobik bir bakteri olan *E. coli*, 15-45°C arasında üreyebilme kapasitesine sahip olmasına rağmen, optimal üreme sıcaklığı 37°C'dir. Ortalama pH seviyesi 7-7.2 civarında olan genel besiyerlerinde, özellikle buyyon ve jeloz gibi ortamlarda hızlı bir üreme göstermektedir. Besiyerinin yüzeyinde sıklıkla 2-3 mm çapında parlak, kenarları düzgün, konveks ve gri-beyaz renkte S tipi koloniler meydana getirmektedir. Özellikle idrar yolu enfeksiyonlarına sebep olan bazı *E. coli* suşları, kanlı agarda hemoliz yapabilmekte; kapsül bulunduran suşlar ise mukoid koloniler oluşturabilmektedir. Karbohidratları asit ve gaz üreterek parçalamaktadır. Eozin metilen mavisi bulunan agarda mavi-yeşil refle veren koloniler oluştururken, McConkey ve Salmonella-Shigella agarda refle vermeyen pembe-kırmızı koloniler meydana getirmektedir (34-36).

Biyokimyasal özelliklerine bakıldığında, İMViC testlerinin (İndol oluşturma, Metil kırmızısı testi, Voges-Proskauer testi, sitrat kullanma) sonuçları (+ + – –) olarak belirtilmektedir. Oksidaz testi negatif mikroorganizmalardır ve üreyi parçalama yeteneğine sahip değildir. Genellikle hidrojen sülfür ($H_2S$) oluşturamaz, fakat sistein içeren besiyerlerinde az da olsa $H_2S$ üretebilmektedirler. Katalazı pozitif ve potasyum siyanür testi genellikle negatiftir (34, 35). Sıcaklık gibi çeşitli dış etkilere karşı direnç gösterebilmektedir. 55°C' de 1 saat, 60°C' de 20 ila 30 dakika, oda sıcaklığında uzun

süre canlılığını sürdürebilme özelliğine sahiptir. Soğuğa karşı da direnç gösterirken, dezenfektanlara duyarlıdır. Somatik (O), kirpik (H) ve kapsül (K) gibi çeşitli antijenik yapılara göre gruplara ve serotiplere ayrılmaktadır (34, 37).

### 2.1.3. *Escherichia coli*' nin Klinik Önemi

İnsan ve bir çok sıcakkanlı hayvanın intestinal kanalında fakültatif anaerop mikrobiyotanın predominant bakterisi olan *E. coli*, dışkıda bol miktarda bulunduğu için indikatör olarak besin ve suların fekal kontaminasyonunun saptanmasında kullanılmaktadır. Bunun yanında pek çok farklı enfeksiyonda etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizde ve dünyada üriner sistem enfeksiyonlarının en sık etkeni olmasının yanında, yara yeri enfeksiyonları, pnömoni ve septisemi gibi hastalıkların da etkeni olarak görülmektedir (27, 38). Patojen aktivitesi, gastointestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonlar olarak 2 gruba ayrılabilmektedir (39).

Gastrointestinal sistem hastalıkları olarak 1945 yılında bakımevi çocuklarındaki ishal salgını ile tanımlanan enteropatojenik *E. coli* (EPEC), 1969 yılında İngiliz askerlerinde ishal salgını yapan enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Brezilya ve Japonya'da basilli dizanteriden ayırt edilemeyen salgınlar yapan enterohemorajik *E. coli* (EHEC) örnek gösterilebilir (40). Bu suşlara ek olarak enteroagregatif *E.coli* (EAEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve diffüz aderens *E. coli* (DEAC) gibi türleri de gastrointestinal enfeksiyon etkenleri arasında yer almaktadır (41-43).

*Escherichia coli*' nin doğal direnç gösterdiği antibiyotikler arasında benzilpenisilinler, rifampisin, linkozamidler, makrolidler, streptograminler, glikopeptidler, fusidik asit, linezolid ve daptomisin yer almaktadır. (44, 45).

## 2.2. Antibiyotikler

Antimikrobiyal ilaçların keşfi, ilk olarak Pasteur ve Joubert' in steril idrarda şarbon basillerinin üreyebilmesine karşın, diğer bakterilerle kontamine olmuş idrarda bu basillerin üreyemediğini saptamalarıyla başlamıştır. 1909 yılında, Alman bakteriyolog Paul Ehrlich enfeksiyon tedavisi üzerine araştırmalar yaparak, arsenik bazlı bir bileşiğin sifilizin erken döneminde etkili olduğunu ve bu bulguyla birlikte "seçici toksik etki" kavramını ortaya koymuştur. Seçici toksik etki, kemoterapötik

maddelerin düşük konsantrasyonlarda kullanıldığında konakçı mikroorganizmaya zarar verip, konağa zarar vermemesi anlamına gelmektedir.

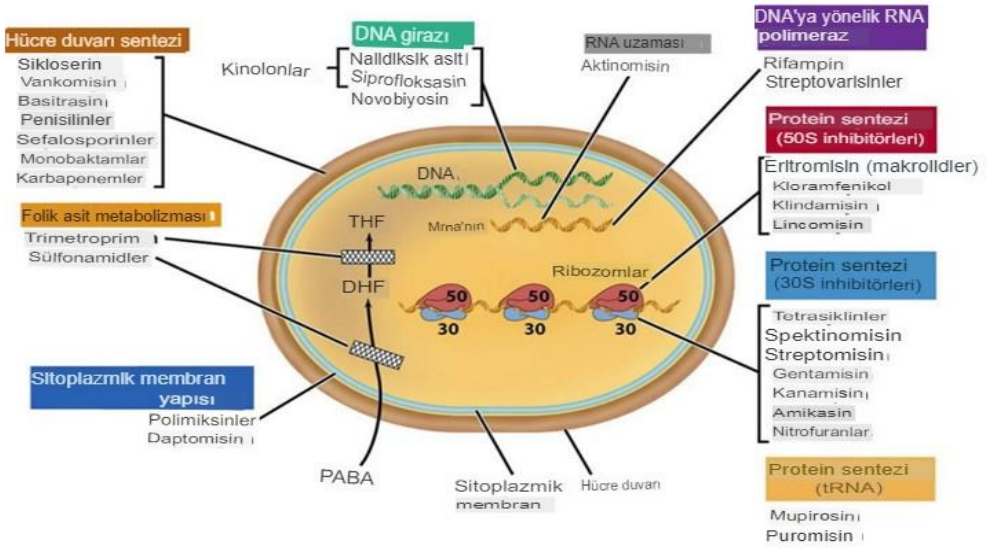
Alexander Fleming 1928 yılında, laboratuvarda kültür ortamında ürettiği *Penicillum* küf mantarının çevresinde stafilokokların üremediğini gözlemlemiştir. Fleming, bu mantarlardan elde ettiği süzüntülerin birçok bakteriye karşı etkili olduğunu keşfetmiş ve antimikrobiyal ilaçların keşfi, Sir Alexander Fleming tarafından penisilin ile gerçekleşmiştir. Fleming, penisilini keşfetmesiyle 1945 yılında Nobel Ödülü' ne layık görülmüş ve bakterilerin bu maddelere belirli bir süre maruz kaldıklarında direnç geliştirebileceklerini belirtmiştir (46).

Antibiyotikler, mantarlar gibi çeşitli mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, biyolojik veya sentetik kaynaklı, mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen ya da yaşam faaliyetine son veren antimikrobiyal maddelerdir (46, 47). Antimikrobiyal terimi, yaşama karşı etki anlamına gelen 'antibiyozis' kelimesinden türetilmiştir. Başlarda bir mikroorganizma tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmalara toksik etki gösteren organik bileşikler olarak tanımlansalar da, zamanla bir bölümünün veya tamamının sentetik yollarla üretildiği antibiyotikleri de kapsayacak şekilde değiştirilmiştir (48).

Antibiyotikler etki mekanizmalarına göre 5 sınıfa ayrılabilmektedir (47).

- Hücre zarı permeabilitesini artıranlar
- Protein sentezi inhibitörleri
- Nükleik asit sentez inhibitörleri
- Antimetabolitler
- Hücre duvar sentez inhibitörleri

Yaygın olarak kullanılan antibiyotikler ve etki yerleri Şekil 1’ de gösterilmiştir.




**Şekil 1.** Antibiyotiklerin hedef bölgeleri (48)

### 2.2.1. Hücre zarı permeabilitesini arttıranlar

Yüksek katyonik moleküller olup hücre zarı geçirgenliğini artırarak bakterisidal etki gösteren antibiyotik grubudur.

#### 2.2.1.1. Polimiksinler

Gram negatif bakterilere karşı yüksek etkinlik gösteren polimiksinler, kimyasal olarak 5 farklı bileşik içeren antibiyotiklerdir (polimiksin A-E). Klinik olarak polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmaktadır.

Polimiksinler Gram negatif hücre zarının dış tabakasındaki lipopolisakkaritleri hedef almaktadırlar. Yapısal olarak pozitif yüklü maddelerdir ve hidrofobik açil zinciri içermektedirler. Bu sebeple lipopolisakkaritlere yüksek afinite ile bağlanıp eletrostatik etkileşime girerek divalan katyonları yerinden oynatırlar. Sonuç olarak hücre zarı zarar görüp geçirgenliği artar ve hücre ölümü gerçekleşir (49).

### 2.2.2. Protein sentez inhibitörleri

Bakteriyel ribozomların alt birimlerine bağlanıp protein sentezini durdurarak etki gösteren maddelerdir.

#### 2.2.2.1. Aminoglikozidler

Aminoglikozidler 2 adet amino şekere glikozidik olarak bağlı siklik amino alkollerdir (50). Bakteri ribozomunun 30S küçük alt biriminin 16S ribozomal RNA'sına bağlanıp protein sentezini inhibe ederek bakterisidal etki göstermektedirler (51). *Streptomyces griseus*' tan elde edilen streptomisin, türünün ilk örneği iken sonrasında gentamisin, tobramisin gibi aminoglikozid grubu antimikrobiyaller geliştirilmiştir (52).

#### 2.2.2.2. Makrolidler

Büyük bir lakton halkası ve buna bağlı bir ya da daha fazla şeker molekülünden oluşan antimikrobiyallerdir (48, 53). Bakteriyel ribozomun 50S alt biriminin 23S ribozomal RNA' sına bağlanıp taşıyıcı RNA'nın bu bölge ile oluşturacağı kompleksi engelleyip protein sentezinde polipeptid zincirine aminoasit eklenmesini durdurmaktadır (48, 54, 55).

Toprakta yaşayan *Streptomyces erythreus* isimli bakteriden elde edilen eritromisine ek olarak klaritromisin ve azitromisin, makrolid grubu antimikrobiyallere örnek oluşturmaktadır (54).

#### 2.2.2.3. Tetrasiklinler

Naftasen adlı halka sistemine sahip geniş spektrumlu antimikrobiyallerdir. Ribozomun 30S alt birimine reversible olarak bağlanıp aminoaçil-tRNA' nın mRNA-ribozom kompleksine olan ilgisini azaltarak protein sentezini durdurmaktadırlar. Doksisiklin ve minosiklin benzer etki mekanizmasına sahip tetrasiklin türevleri olarak kullanılmaktadır (50, 56).

#### 2.2.2.4. Oksazolidinonlar

Oksazolidinonlar, ribozomal protein sentezini inhibe eden antimikrobiyal ajanlardır. Linezolid, oksazolidinonların ilk üyesi olup bakteri ribozomunun 50S alt biriminde bulunan 23S ribozomal RNA' ya bağlanarak protein sentezini engellemektedir (57). Linezolid, diğer protein sentez inhibitörlerine benzer olarak bakteriyostatik etki sergilemektedir (58).

### 2.2.3. Nükleik asit sentez inhibitörleri

Hücre bölünmesi için gerekli olan nükleik asit sentezinde rol oynayan enzimleri inhibe ederek bakterisidal etki gösteren moleküllerdir.

#### 2.2.3.1. Kinolonlar

Kinolon grubu antimikrobiyaller klinikte sık kullanılan sentetik maddelerdir (59). Bakteri DNA' sının sentezinde rol oynayan Topoizomeraz 2 (DNA giraz) ve Topoizomeraz 4 enzimlerinin çalışmasını engelleyerek etki göstermektedirler. Gram pozitif mikroorganizmalar için ana hedef Topoizomeraz 4' tür. Bu enzimin inhibisyonu sonucu sentezlenen DNA yavru hücrelere aktarılamaz. Gram negatiflerde ise asıl hedef DNA giraz enzimidir. Bu enzim DNA' nın süpersarmal oluşturarak hücre içine sığdırılmasında rol oynamaktadır. Ayrıca transkripsiyon ve replikasyon olaylarında DNA çift zincirini kırarak negatif sarmallaşma ve sonrasında kırılan zincirleri tekrar bağlayarak pozitif süpersarmallaşma sağlamaktadır (60).

Kinolonlar, DNA giraz enzimi ile DNA arasına girerek kompleks oluşturmaktadır (59). Bu durumun sonucunda bakteri DNA' sı hücre içine sığamayacak hale gelip bakterinin şeklini bozmakta, ayrıca DNA' nın transkripsiyonu ve replikasyonunu da engelleyerek bakteri hücresi öldürmektedir (60). Nalidiksik asit, siprofloksasin, levofloksasin ve moksifloksasin kinolon grubu antimikrobiyallere örnek gösterilebilir (61).

### 2.2.4. Antimetabolitler

Bakterilerin yaşamsal faaliyetleri için gerekli olan metabolik aktiviteleri enzim inhibisyonu yaparak sonlandıran antimikrobiyal ajanlardır.

#### 2.2.4.1. Sülfonamidler

Sülfonamidler, anilin boyasından üretilen, para-aminobenzensülfanilamid yapısına sahip sentetik antimikrobiyal ajanlardır (62). Folik asit sentezinde yer alan dihidropteroat sentaz enziminin çalışmasını engelleyerek nükleik asit üretimini durdurmaktadırlar (63, 64).

Mikroorganizmaların çoğu DNA sentezinde gerekli olan nükleik asitlerin üretimi için folik asite ihtiyaç duyar. Memeliler folik asiti dışardan almak zorunda iken bakteri hücresi folik asiti sentezleyebilmektedir. Sentez için gerekli olan para-

aminobenzoik aside (PABA) kimyasal olarak çok benzeyen sülfonamidler, bu molekülün yerine geçerek nükleik asit sentezini durdurup bakteriyostatik etki göstermektedir. Sonuç olarak çoğalması engelenen mikroorganizmalar immün sistem tarafından ortadan kaldırılır. Sülfametoksazol ve sülfodiazin bu grupta yer alan antimikrobiyallere örnek olarak verilebilir (62).

Trimetoprim (TMP), folik asit sentezinde görevli bir diğer enzim olan dihidrofolat redüktazı (DHFR) inhibe ederek mikroorganizmanın DNA sentezini engelleyerek bakteriyostatik etki gösteren antimikrobiyal bir ajandır (65, 66). Dihidrofolat redüktaz enzimi insan hücresinde de bulunmasına rağmen trimetoprimin *E.coli*' nin DHFR' sine olan yüksek afinitesi sayesinde bakteri hücresi hedef olmaktadır (66). Sülfonamidler ile kombine halde verilen TMP, bakteriyel ve protozoal pek çok hastalığın tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (62).

### 2.2.5. Hücre duvarı sentez inhibitörleri

Hücre duvar sentezini inhibe ederek bakterinin şeklini bozan bu sayede bakteriyi çevresel etkilere (özellikle osmotik yük) korunmasız hale getirip bakterisidal etki gösteren maddelerdir.

#### 2.2.5.1. Glikopeptitler

Glikopeptitler, antimikrobiyal etkilerini hücre duvarı sentezini bozarak göstermektedirler. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarındaki D-ala D-ala peptitlerine bağlanıp transglikolizasyonu ve peptidoglikan sentezini engelleyerek bakterisidal etki sergilemektedirler. Gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipit tabakasını geçemedikleri için, bu bakteriler üzerinde etki gösterme kapasitesine sahip değillerdir. Vankomisin ve teikoplanin, glikopeptitlere örnek olarak verilebilir (67).

#### 2.2.5.2. Beta laktam Antibiyotikler

Beta laktam halka yapısına sahip olan bu antibiyotikler, penisilin bağlayan proteinler (PBP) olarak adlandırılan transpeptidaz enzimlerinin inhibitörleri olarak işlev gösterip bakteri hücre duvar sentezini engellemektedir. Bu enzimler, hücre duvar yapısına katılan, peptidoglikan tabakada yer alan pentapeptitlerin, bağ oluşturma reaksiyonunu katalizlemektedir (68). Beta laktamlar, DD-peptidaz olarak adlandırılan

D-alanil-D-alanin karboksipeptidaz ile oldukça spesifik bir şekilde etkileşmektedirler (69). Bu etkileşim sonucunda peptidoglikan tabakanın peptid bağ yapması engellenerek hücre duvar sentezi durmakta ve osmotik dengeyi koruyamayan hücre ölmektedir (70).

Beta laktam grubu antibiyotikler kimyasal yapısındaki halkalara ve bu halkalara bağlı yan zincirlere göre penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve beta laktam/beta laktamaz inhibitör kombinasyonları olarak 5 sınıfa ayrılmaktadır.

#### 2.2.5.2.1. Penisilinler

İngiliz bakteriyolog Sir Alexander Fleming tarafından 1928 yılında keşfedilen ilk antimikrobiyal madde penisilindir (48). Penisilinler, hücre duvarı sentezinin son basamağını katalizleyen transpeptidaz enzimini inhibe ederek bakterisidal etki göstermektedirler (71).

Ampisilin, metisilin ve amoksisilin, penisilinlere örnek olarak gösterilebilir (47). Ampisilin, mevcut halkaya farklı yan zincirler eklenerek yarı sentetik olarak geliştirilmiştir. Bu yan zincirler bakteri hücre duvarı ile olan etkileşimi kolaylaştırmakta ve bakterinin ürettiği bazı enzimlere direnç sağlamaktadır (48). Ampisilin, Gram negatif mikroorganizmaların hücre duvarında yer alan porin kanallarından geçebildiği için *E.coli*' ye etkili antibiyotikler arasında yer almaktadır (70).

#### 2.2.5.2.2. Sefalosporinler

Sefalosporin grubu antimikrobiyaller, çeşitli yan zincirlere sahiptirler ve bu durum farklı PBP'lere bağlanmayı mümkün kılar. Bu yan zincirler, sefalosporinlerin Gram negatif bakterilere girişini kolaylaştırmaktadır (48). Sefalosporinler, PBP' lere bağlanıp peptidoglikan tabakasının sentezini engellemekte ve bunun sonucunda hücre lizise uğramaktadır (72). Sefotaksim, sefazolin, sefoksitin ve sefepim gibi antimikrobiyaller sefalosporinlere örnek olarak gösterilebilmektedir (70).

#### 2.2.5.2.3. Monobaktamlar

Monobaktamlar, beta-laktam grubuna ait, yapısında tek halka bulunduran antimikrobiyal ilaçlardır. Bu antibiyotikler, özellikle Gram negatif bakterilere etkili

iken Gram pozitif ve anaerob bakterilere etkinlikleri bulunmamaktadır. Monobaktamlara örnek olarak aztreonam verilebilir. Aztreonam, piyelonefrit ve diğer üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. (73).

#### 2.2.5.2.4. Karbapenemler

Karbapenemler, beta laktamaz enzimlerine karşı direnç gösteren Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı en yüksek etkiye sahip antimikrobiyallerdir. İmipenem ve meropenem, karbapenemlere örnek olarak gösterilebilir (48). Gram negatif bakteriyemilerin ve komplike üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadırlar (73).

#### 2.2.5.2.5. Beta Laktam/ Beta Laktamaz İnhibitör Kombinasyonları

Beta laktamaz inhibitörleri, tek başına antimikrobiyal etkileri çok az olan ya da hiç olmayan, beta laktam halkasına sahip moleküllerdir. Sulbaktam, klavulanik asit, tazobaktam gibi örnekler, beta laktamaz enzimleri tarafından parçalanan beta laktam grubu antibiyotiklerin etkisini artırmak amacıyla ile kombine şekilde kullanılmaktadır (73).

#### 2.2.5.2.6 Fosfomisin

Fosfomisin, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces viridochromogenes* ve *Streptomyces wedmorensis* türlerinin fermantasyon ürünü olarak elde edilen ve fosfoenolpirüvatın yapısal bir analoğu olan bir antibiyotiktir. Bakteri duvar sentezinin ilk basamağında görevli MurA enziminin 115. Pozisyondaki sisteinine geri dönüşümsüz olarak bağlanıp bu enzimin çalışmasını engeller. MurA enziminin inaktivasyonu peptidoglikan sentezini engelleyip hücresel bütünlüğü bozar ve bakterinin osmotik parçalanmasına neden olur (74). Ayıca fosfomisin Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin fimbrial sentezini ve hareket yeteneğini de azaltarak antiadezif etki oluşturabilmektedir.

Fosfomisin, metisiline dirençli *Staphlococcus aureus*, glikopeptidlere duyarlı ya da dirençli enterokoklar ve birçok antibiyotiğe dirençli *Enterobacterales* türlerinde etkin olarak kullanılabilen bir antibiyotiktir. Amerika Birleşik Devleteri' nde 'Food and Drug Aminnistration (FDA), fosfomisinin sadece komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonların tedavisinde onaylamıştır (75). Ancak yapılan çalışmalar solunum ve

dolaşım enfeksiyonlarında diğer antimikrobiyal ajanlarla birlikte kullanılmasının sinerjistik etki göstererek tedavi etkinliğini artırdığı göstermiştir (76, 77).

Antimikrobiyal ajanlara karşı artan direnç oranları, mevcut antibiyotiklerin kullanım alanlarını genişletmekte ve yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine yönelik çalışmaları hızlandırmaktadır. Bu durum, hem daha etkili tedavi yöntemlerinin bulunmasına hem de antibiyotik direnciyle mücadelede yeni stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

### 2.3. Antimikrobiyal Direnç

Antimikrobiyal direnç, bakterilerin antimikrobiyal ajanlarla öldürülmesini engelleyebilme yeteneğidir. Gereksiz ve uygun olmayan antibiyotik kullanımı, antimikrobiyal dirence yol açmaktadır. Dünya çapında antimikrobiyal direnç, önemli bir halk sağlığı sorunudur çünkü dirençli mikroorganizmalar, tedavi masraflarının yanı sıra morbidite ve mortalite oranlarını da artırmaktadır (78). Antimikrobiyal direnci teşvik eden genler, hareketli genetik elemanlar aracılığı ile diğer bakterilere de aktarılmaktadır (79). Bu durum özellikle gelişmekte olan ülkelerde antimikrobiyal direncin yayılmasına neden olmaktadır (80).

Antimikrobiyal direnç pek çok ülkede ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. Uluslararası sağlık kuruluşları bu sebeple konu üzerinde çeşitli çalışmalar yapmaktadır. Ülkelerin antimikrobiyal direnç ile alakalı epidemiyolojik veri sunması, çalışmalar sonucu alınacak önlemlerin etkinliğinin takip edilmesi açısından çok önemlidir.

Antimikrobiyal direnç mekanizmalarına bakıldığında beta laktamaz enzimleri ve bu enzimlerin kodlandığı hareketli direnç genleri konusu önemli bir yer tutmaktadır. Konu ile alakalı dünyanın farklı bölgelerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır (81-83).

Antibiyotik direnci, tedavi seçeneklerini kısıtlayarak enfeksiyonların yönetimini zorlaştırmakta ve sağlık sistemlerine büyük yük getirmektedir. Dirençle mücadele etmek için global bir yaklaşımın benimsenmesi, antibiyotiklerin rasyonel kullanımın teşvik edilmesi ve direnç paternlerinin sürekli olarak izlenmesi önerilmektedir (84).

### 2.3.1. Antimikrobiyal Direncin Ortaya Çıkma ve Yayılma Mekanizmaları

#### 2.3.1.1. Mutasyonlar

Antimikrobiyal direnç oluşumuna sebep olan en önemli mekanizmalardan biri nokta mutasyonlardır. Nokta mutasyonları tek bir nükleotidin değişmesi ile meydana gelir. Bu mutasyonlar bakteriye yeni bir antimikrobiyal direnç kazandırabileceği gibi mevcut direnç yelpazesini de artırabilmektedir. Örneğin; kinolon grubu antibiyotiklere direnç DNA giraz veya topoizomeraz IV enzimlerini kodlayan genlerde meydana gelen nokta mutasyonlar sonucu oluşmaktadır. Beta laktamaz enzimlerinin aminoasit diziliminde birkaç değişiklik, bu enzimlere genişlemiş spektrum özelliği kazandırabilmektedir (85, 86).

Mutasyonlar sonucunda özellikle DNA tamiri ve okuma-doğrulama merkezleri işlevsiz kalabilmektedir. Bu durum mutasyon geçiren bakterilerin başka bir mutasyon geçirme ihtimalini artırmaktadır (hipermutabilite). Yapılan bir araştırmada bu ihtimalin 200 kat fazla olduğu belirtilmiştir (87).

#### 2.3.1.2. Gen Transfer Mekanizmaları

Antibiyotik direnç genlerinin yayılmasında çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Bu mekanizmalar transformasyon, konjugasyon ve transdüksiyon olarak bilinmektedir (16).

##### 2.3.1.2.1. Transformasyon

Transformasyon, verici hücre tarafından serbest bırakılan DNA' nın alıcı hücre tarafından alınarak genomun bir parçası haline gelmesi sürecidir. Bu olgu ilk kez 1928 yılında Frederick Griffith tarafından *Streptococcus pneumoniae* üzerinde yapılan deneyde gösterilmiştir (88).

Çevreden DNA alımı, birçok bakterinin fiziksel olarak hazır hale gelmesini gerektirir. Bu hazırlık durumu, uyumluluk (competence) olarak adlandırılır ve bakterinin DNA' yı alarak genomuna entegre etmesini sağlar. DNA alımı üç aşamada gerçekleşir: ilk olarak, çift iplikli DNA' nın alıcı hücre duvarına bağlanması; ikinci olarak, DNA' nın tek iplikli hale gelmesi için parçalanması; ve son olarak, tek iplikli DNA' nın hücre içine aktarılmasıdır (88). Tek iplikli DNA genom ile bütünleştiğinde, bakteri genetik rekombinasyon yoluyla doğal olarak transformasyona uğramış olur. Bazı bakteriler doğal olarak transformasyon için uyumludur. *Streptococcus*

*penumoniae, Helicobacter pylori* ve *Neisseria gonorrhoeae* bu bakterilere örnek olarak gösterilebilir (89, 90).

#### 2.3.1.2.2. Konjugasyon

Bakteriyel konjugasyon, hücreler arasında doğrudan temas gerektiren ve plazmid ya da konjugatif transpozon gibi hareket edebilen DNA moleküllerinin verici hücreden alıcı hücreye aktarılmasını sağlayan bir genetik değişim mekanizmasıdır. Bu süreç, ilk olarak *E. coli*' nin farklı suşları arasındaki DNA transferini tanımlamak amacıyla önerilmiştir (91, 92).

Günümüzde konjugasyon teknikleri, hemen hemen tüm kültüre edilebilen gram negatif bakterilerde ve bazı gram pozitif bakterilerde kullanılmaktadır (93). *E. coli*' deki konjugasyon ve gen transferi, sirküler bir plazmid DNA olan fertilite faktörü veya seks faktörü (F) ile gerçekleştirilir. Eğer bir hücre F plazmidini taşıyorsa $F^+$ olarak, taşımıyorsa $F^-$ olarak adlandırılır. F plazmidleri, plazmidlere birçok önemli özellik kazandıran yaklaşık 100 gen içerir. Bu özellikler şunlardır:

- F plazmidi, hücre bölünmesi sırasında kendi DNA' sını çoğaltabilir.
- F plazmid taşıyan hücre, pili denilen yapılar sentezleyerek bakterinin hücre yüzeyinde başka hücrelerle yapışmasını sağlar. Bu sayede iki hücre konjugasyona girer.
- $F^+$ ve $F^-$ hücreler arasında konjugasyon gerçekleşir. Konjugasyon sırasında $F^+$ hücre verici olarak görev yapar. F plazmid DNA' sı replike olur ve yeni sentezlenen sirküler F molekülünün kopyası $F^-$ hücreye aktarılır. Alıcı hücre, sirküler F genomuna sahip olduğu için $F^-$'den $F^+$'ye dönüşür.
- $F^+$ hücreler diğer $F^+$ hücrelerle temastan kaçınırlar. Bu nedenle F plazmidleri $F^+$ hücreden $F^+$ hücreye aktarılmaz.
- Bazen F hücre, insersiyon sekansı (IS elementleri) adı verilen hareketli genetik elemanları taşıyabilir. Bu IS elementleri, konak kromozomu içinde veya kromozom ve plazmid arasında hareket edebilir. Hem plazmid hem de kromozomda bulunan IS elementleri, çapraz geçiş (crossing-over) olayına yol açar. İki sirküler DNA arasında çapraz geçiş olması, plazmidin bakteri kromozomuna entegrasyonuna neden olur. Entegrasyon gerçekleştiğinde, F faktörü kendi DNA' sı ile birlikte alıcı hücredeki tüm konak kromozomunu da

transfer edebilir. F faktörü bazen konak kromozomuna entegre olabilir ve bu yapı "yüksek rekombinasyon sıklığı" (Hfr) olarak adlandırılır.

- Entegre olmuş F faktörü, bazen Hfr hücresinin kromozomundan ayrılarak birkaç konak kromozomuna ait genle birlikte sitoplazmaya dönebilir. Bu değiştirilmiş F, F' olarak adlandırılır ve taşıdığı konakçı genleri alıcı hücreye ($F^-$) aktarabilir. Böylece alıcı hücre, aynı genin iki kopyasını içerir; biri bakteri kromozomu üzerinde, diğeri ise yeni aktarılan F' faktöründe bulunur (94).

Relaksaz, konjugasyonda kritik bir proteindir. Çünkü bu protein, bir plazmidin konjugal aktarımı için gerekli olan kısa DNA sekansını (*cis* formunda) tanır. Relaksaz, konjugasyonun başlangıç ve bitiş aşamalarını katalizler. Diğer bir deyişle, verici hücredeki origin of transfer bölgesi (*oriT*)' nin ayrılmasını sağlar. Aktarılacak olan DNA zinciri bu şekilde üretilir ve alıcı hücreye taşınan DNA' nın son ligasyonu konjuge plazmit olarak yeniden oluşturulur (95).

**2.3.1.2.3. Transdüksiyon**

Transdüksiyon, bağımsız çoğalabilen bakteriyofajlar veya fajlar aracılığıyla DNA'nın bakterilere aktarılmasıyla gerçekleşen bir genetik değişim mekanizmasıdır. Bu mekanizmada, enfekte eden faj, bakteri kromozomunu parçalayarak kendi DNA' sını çoğaltmak için konağı kullanır (96). Transdüksiyon iki şekilde ortaya çıkabilir: genelleştirilmiş transdüksiyon ve özelleşmiş transdüksiyon. Genelleştirilmiş transdüksiyon, verici hücre genomunun bir kısmının alıcı hücreye litik veya lizojenik bir faj aracılığıyla aktarılmasıdır. Özelleşmiş transdüksiyon ise sadece lizojenik fajlar aracılığıyla verici hücrenin belirli genlerinin alıcı hücreye aktarılmasıdır (97).

Litik döngüde, litik faj üretken bir aşamaya girer. Bu aşamada faj genomu replike olur, faj kapsiti ve kuyruk proteinleri bakteriyel hücre mekanizmalarını kullanarak sentezlenir. Daha sonra faj genomu, yeni sentezlenen faj parçacıklarının içine yerleştirilir ve bu yapılar, bakteri lizisi sonucu serbest bırakılır. Lizojenik döngüde ise, lizojenik bir faj genomu bakteri kromozomuna entegre olur (profaj) ve gizli veya durgun bir halde kalır (98).

### 2.3.2. Yatay Gen Transferi

Yatay gen aktarımı (YGA), bir bakteri hücresine ait genetik yapıların diğer bir bakteri hücresine aktarılması olarak tanımlanmakta ve bu transfer sonucu bakteri popülasyonunda genetik çeşitliliğe sebep olmaktadır (99). Yatay gen transferi ile transfer edilen yabancı DNA, konak bakterinin içerisinde hareketli genetik elemanlar sayesinde mobilize edilmektedir (100). Yabancı DNA' nın YGA ile kazanılması, antimikrobiyal direncin gelişmesinde kritik bir role sahiptir. Klinik uygulamalarda sıkça kullanılan pek çok antimikrobiyal ajan, doğal olarak çevrede -genellikle toprakta- bulunur veya topraktan türetilir. Bu sebeple antibiyotik direnç genlerine sahip bakterilerin çevreyle etkileşim içinde oldukları göz önüne alındığında, hastane kökenli izolatların, direnç genlerini kazanmasında çevrenin kaynak olabileceğini düşündüren pek çok kanıt bulunmaktadır. Bu genetik değişim, antimikrobiyal direncin yayılımında önemli bir rol oynamaktadır (101)

Hareketli genetik elemanlar (HGE), konak hücre genomları arasında fiziksel olarak hareket edebildikleri için bakteri popülasyonunda yaygın bir şekilde bulunmaktadırlar (99). Bu hareketli yapılar, bakteri genomunda ve patojenitesinde farklılaşmaya sebep olarak bakteriye ait genetik yapıda değişikliklere neden olmaktadır (100). Hareketli genetik elemanlar iki şekilde görülmektedir. Birincisi, bir bakteriden diğerine antimikrobiyal direnç geninin transferinde görevli konjugatif direnç plazmidleri ve direnç transpozonları; ikincisi ise hücre genomu içinde bir bölgeden diğerine hareket edebilen genetik elemanlardır (102). Plazmidler, bakteriyofajlar, genomik adalar, integratif ve konjugatif elementler, insersiyon sekansları, transpozonlar ve integronlar HGE' lere örnek olarak gösterilmektedir. Hareketli genetik elemanlar nedeniyle olan yatay gen transferleri, patojen bakteriler arasında ilaç direncinin yayılmasına ve bu genlerin rekombinasyona neden olmaktadır (99).

#### 2.3.2.1. Gen Transferinde Rol Oynayan Hareketli Genetik Elemanlar

##### 2.3.2.1.1. Plazmidler

Plazmidler, bakterilerde oldukça sık bulunan ekstrakromozomal genetik yapıları temsil etmektedirler. Bakteri kromozomu ile karşılaştırıldıklarında daha küçük oldukları görülmektedir. Bazıları birkaç kilobaz boyutunda olabilirken, 150 kilobaz

(kb)' a kadar büyük olabilenler de mevcuttur. Plazmidler genellikle dairesel yapıya sahip olsalar da, *Borrelia* ve *Streptomyces* gibi bazı türlerde lineer formda bulunabilirler. Plazmidler, konakçı bakteriler için antibiyotik direnç genleri gibi faydalı genleri taşıma eğilimindedirler. Direnç genlerinin yanı sıra, $Hg^{+2}$ gibi metal iyonlarına, kuaterner amonyum bileşikleri içeren antiseptik bileşenlere ve hatta UV ışınlara karşı direnç sağlayan genleri bulundurabilirler (103). Birçok direnç plazmidi konjugatif olarak işlev görür, yani hücreden hücreye DNA transferini sağlamak için gerekli olan fonksiyonları kodlar. Diğer plazmidler ise, hücre içinde bulunan konjugatif bir plazmidin desteğiyle hareketli hale gelebilirler (104).

Plazmidler bazen sadece DNA transferleri için gerekli olan genleri taşıyıp hücreler arası temasta görev alan genlerden yoksun olabilirler. İki hücre arasındaki temas genellikle konjugatif plazmidler aracılığıyla gerçekleşir. Mobilize olabilen plazmidler, direnç geni gibi bazı genleri kodlayarak 10 kb' den daha küçük boyutlara sahip olabilirken, konjugatif plazmidler genellikle 30 kb' den 100 kb' ye kadar büyük olabilirler (100).

Plazmid replikonları, bir ya da birden fazla replikasyon orijini (*ori*) ve Rep proteinleri gibi replikasyonu düzenleyen elemanlardan oluşur ve DNA' nın 4 kb' lik bir bölgesinde bulunurlar. Bununla birlikte plazmidler, replikasyona yardımcı birkaç adet gen de içermektedirler. Plazmid replikasyonu ile *E. coli* kromozomunun replikasyonu moleküler olarak birbirlerine benzerlik gösterebilmektedir (105).

#### 2.3.2.1.2. Transpozonlar

Transpozonlar, genom içinde farklı noktalara hareket edebilen, sıçrama yeteneğine sahip genetik yapılar olarak tanımlanmaktadır. Yapılarındaki çeşitlilik; genetik ilişkiler, transpozisyon mekanizması ve taşıdıkları direnç genlerine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (102). Transpozonlar özellikle *Enterobacteriaceae* ailesindeki klinik dirençle ilişkilendirilir (106).

Transpozonlar, insersiyon sekansları ve transpoze olabilen bakteriyofajlar gibi ufak elemanlar içerip plazmitlere ya da kromozoma yerleşebilirler. Rekombinasyonda rol oynayan terminal tekrar dizileri transposaz ve rekombinaz adında proteinleri tanıyıp, belirli gen bölgelerine transpozon ekleme veya çıkarma işlevinde gereklidir. Transpozonlar; konjugasyon, transformasyon veya transdüksiyon yoluyla aktarılabilir

ve kromozomdaki genlerden daha hızlı yayılma eğilimindedir. Konjugatif transpozonlar, genel olarak plazmitlere benzerlik gösterip, plazmitlerin bir mikroorganizmadan diğerine transferinde görev almaktadır (107).

#### 2.3.2.1.3. İntegronlar

İntegronlar, antibiyotik direnç gen kasetlerini içerdiğinde direnç genlerini yayabilen ve bu genlerin rekombinasyonunda görev alabilen genetik yapılar olarak tanımlanmıştır (108). Kendileri hareket edemeseler de transpozon ya da plazmit gibi hareketli genetik elemanların üzerine yerleşip transfer edilebilirler. Bu sayede, antibiyotik direnç genlerinin tür içi veya türler arasında yayılmasında rol oynarlar (109). Ruth M. Hall ve Christina M. Collis tarafından 1989 senesinde raporlandıktan sonra, integronların mobilizasyonu ve gen kasetlerinin entegrasyonunu temel alan mekanizmalar konusunda pek çok araştırma yapılmıştır. Klinik mikroorganizmalardaki varlıkları ve antimikrobiyal dirençteki rolleriyle ilgili son yıllarda çalışmalar sürmektedir (110). Biyomühendisler, bakteriye ait genetik yapıları inceleyip integron bölgelerini kısmen veya tamamen sekansladıklarında, bakteri genomunun yaklaşık % 10-17' sini oluşturduğunu saptamışlardır. İlk kez insana ait klinik suşlardan elde edilen integronların, günümüzde su ve toprak gibi çevresel ortamlarda da bulundukları gösterilmiştir (111).

Gen kasetleri, *attI* ve *attC* isimli rekombinasyon bölgelerinden giriş yaparak integronların değişken bölgelerine yerleşirler. Bu sayede integronların bir parçası olurlar (112). Antibiyotik direnci taşıdığı tespit edilen en az 130 farklı gen kaseti mevcuttur. Bu gen kasetlerinde beta laktam, aminoglikozit, kloramfenikol, trimetoprim, rifampin, eritromisin, kinolon, fosfomisin, linkomisin ve antiseptiklerde bulunan kuaterner amonyum bileşiklerine direnç gelişimine sebep olan genlerin bulunduğu belirlenmiştir (113).

**İntegronların Yapısı ve Sınıflandırılması:** İntegronlar, daha önceleri direnç integronları ve süper integronlar adı verilen 2 grupta incelenmiştir. Direnç integronları genellikle antibiyotik ve dezenfektanlara direnç meydana getiren gen kasetlerini taşımaktadır. Bu integronlar kromozom veya plazmit üzerinde yer alabilmektedir. Süper integronlar ise büyük kromozom yapılarında yer alan integronlar olup, pek çok fonksiyonu bulunan gen kasetlerini içermektedir. İntegronlar ilk olarak antibiyotik

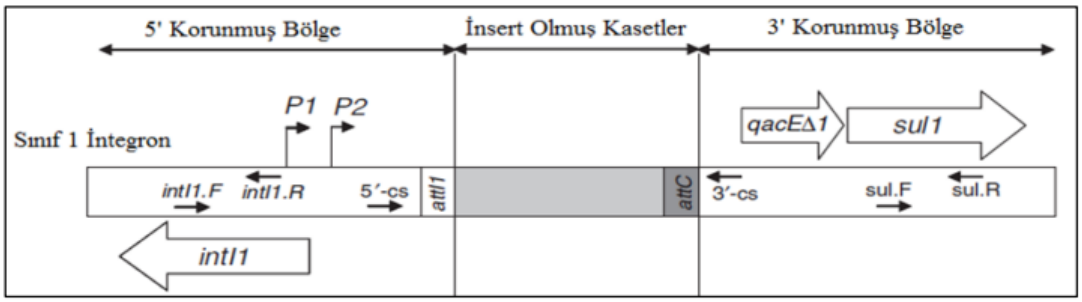
direncinin yayılmasına sebep oldukları için klinik çalışmalarda keşfedilmiştir. Bu çalışmalar sayesinde direnç integronlarına ait sınıf 1, sınıf 2 ve sınıf 3 olarak adlandırılan integronlar tanımlanmıştır. Daha sonra farklı integronlara ait integraz genleri (*intI4, 5, 6, 7* ve *8* gibi) çevre kaynaklardan izole edilmiş ve böylelikle yeni integron sınıfları oluşturulmuştur. Günümüzde sekans analizlerinin de varlığı ile yüzlerce integrona ait integraz geni tespit edilmiştir (114).

**A) Sınıf 1 İntegronlar**

Sınıf 1 integronlar daha çok Gram negatif bakterilerde bulunur ve kendilerine ait 60 adet gen kaseti tanımlanmıştır (115). Büyük konjugatif plazmidlere entegre olan *Tn21* gibi transpozonlar üzerinde tespit edilmişler ve prototip sayılmışlardır (116, 117). Sulfonamid direncinden sorumlu *sul1* ve streptomisin direncinden sorumlu *aadA1* gen kasetlerini ihtiva ederler (118).

Sınıf 1 integronlar, klinik suşlar ile yapılan çalışmalarda en yaygın integron sınıfı olarak tespit edildiği için antimikrobiyal direncin yayılmasında büyük rol oynamaktadırlar (99). *Acinetobacter, Proteus, Burkholderia, Campylobacter, Enterobacter, Klebsiella, Pseudomonas, Serratia, Salmonella, Shigella* ve *Escherichia* gibi pek çok Gram negatif mikroorganizmada rapor edilmişlerdir (119).

Sınıf 1 integronların yapısına bakıldığında, 5’ korunmuş bölge (5’CS) ve 3’ korunmuş bölge (3’CS) ile gen kasetlerini bulunduran ‘variable region’ (VR) olarak isimlendirilen değişken bölge içermektedirler (120). 5’CS bölgesinde 3 temel yapı yer almaktadır. Bu yapılar tirozin rekombinaz enzimini kodlamakla görevli integraz geni (*intI*), rekombinasyon bölgesi olarak bilinen *attI* ve gen kasetlerininin ekspresyonunda görevli promotor bölgeden (P) oluşmaktadır. 3’CS bölgesi ise defektif kuaterner amonyuma ve sulfonamidlere dirençten sorumlu genleri (sırasıyla *qac*EΔ1 ve *sulI*) bulundurmaktadır (Şekil 2). Korunmuş bölgeler arasında yer alan değişken bölge direnç gen kasetlerinin girdiği 59 baz çiftlik *attC* gen bölgesini içerir ki bu bölge rekombinasyon bölgesidir (116).



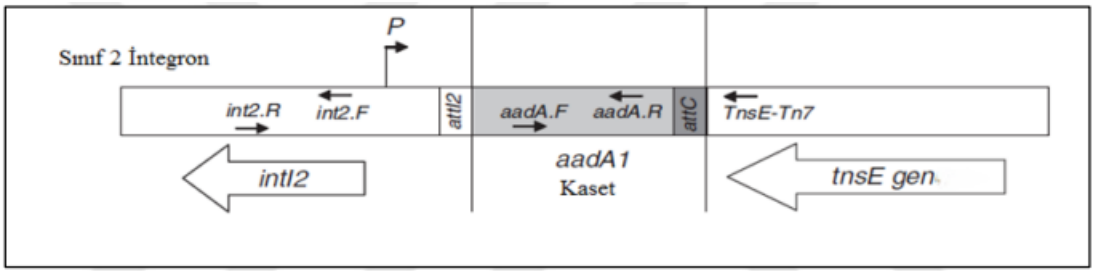

**Şekil 2.** Sınıf 1 integronun yapısı (121)

**B) Sınıf 2 İntegronlar**

Sınıf 2 integronlar genelde replike olmayan *Tn7* transpozonlarına entegre haldedir (122). Bu transpozonlar hücrede özel bir konumda aktive olan, 14 kb boyutunda, antibakteriyal direnç genlerini taşıyan ve konjugatif plazmitlerle transpoze olan yapılardır (123, 124).

Sınıf 2 integronlar, sınıf 1 integronlara benzer organizasyonda bulunurlar. Taşıdıkları gen kasetleri trimetoprim direncine sebep olan dihidrofolat redüktaz (*dfrA1*), streptotrisin direncine sebep olan asetil transferaz (*sat2*) ve streptomisin direncine sebep olan aminoglikozit adenil transferaz (*aadA1*) enzimlerini kodlar (122). Bu integronlar *Salmonella*, *Shigella*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Morganella* ve *Aeromonas*' ta tespit edilmiştir (119).

Sınıf 2 integronların yapısında sınıf 1' e benzer şekilde 5'CS bölgesinde *intI2*, *attI2* ve promotor bölge (P) bulunmaktadır. 3'CS bölgesinde genelde *Tn7* üzerinde bulundukları için *tnsE* geni taşımaktadırlar (Şekil 3). Bu integronlar yaygın olarak *sfrA1*, *sat2* ve *aadA1* gen kasetlerine sahiptirler (125).




**Şekil 3.** Sınıf 2 integronun yapısı (121)

### C) Sınıf 3, Sınıf 4 ve Sınıf 5 İntegronlar

Sınıf 3 integronlar transpozon *Tn402* ile ilişkilidir. İntergaz geni (*intI3*) *intI1*' e % 60 oranında benzemektedir. Sınıf 3 integronlar en az bulunan sınıf olmalarına rağmen hızlı bir şekilde farklı türlere aktarılmakta ve yeni direnç gen kasetleri bulundurmaktadır (126). Çoğunlukla *Klebsiella, Escherichia, Acinetobacter* spp, *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas putida*, çevresel *Enterobacter* ve *Citrobacter* türlerinde tespit edilmişlerdir (127).

Sınıf 4 ve sınıf 5 integronlar henüz kapsamlı bir şekilde çalışılmamış ve *Enterobacterales* üyelerinde rastlanmamıştır. Özellikle *Vibrio* türlerinde antimikrobiyal dirençten sorumlu oldukları tespit edilmiştir (126).

### 2.3.2. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç, mikroorganizmalarda çeşitli biçimlerde ortaya çıkabilir. Bir mikroorganizma, tek bir antimikrobiyal ilaca karşı birden fazla direnç mekanizması geliştirebilir; bu durum "çapraz direnç" olarak adlandırılır. Öte yandan, mikroorganizmaların farklı yapı ve etki mekanizmasına sahip birçok antimikrobiyal ilaca direnç göstermesi "çoklu ilaç direnci" olarak tanımlanır (128)**.**

Antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç farklı şekillerde ortaya çıkabilir:

**Doğal Direnç:** Bazı bakteriler, genetik yapılarına bağlı olarak belirli antimikrobiyal ilaçlara karşı doğal bir direnç gösterirler; bu durum doğal direnç olarak adlandırılır.

**Kazanılmış Direnç:** Genetik özelliklerdeki değişiklikler, bakterideki transpozon veya plazmid DNA'sında meydana gelen mutasyonlarla oluşur. Bu direnç, dirençli bakterilerin konjugasyon, transformasyon veya transdüksiyon yoluyla genlerini aktarması sonucu ortaya çıkar.

**Çevresel ve Koşullara Bağlı Direnç:** Oksijen basıncı değişiklikleri, dokudaki pH dalgalanmaları ve antimikrobiyal ilacın enfeksiyon bölgesine ulaşamaması gibi etkenler, in vitro testlerde etkili görülen ilaçların in vivo ortamda etkisiz kalmasına neden olabilir (129).

Bakterilerin antimikrobiyal ilaçlara karşı geliştirdikleri direnç mekanizmaları şu şekilde sınıflandırılabilir:

- İlacın hedefinde değişiklik,
- Alternatif metabolik yolların kullanımı,
- Hücre zarı geçirgenliğinin azaltılması,
- İlacın aktif pompalama ile hücre dışına atılması.
- İlacın enzimatik olarak inaktive edilmesi,

**A) İlaç Hedefindeki Değişiklik**

Hedef bölgede meydana gelen değişiklikler, genellikle bakteriyel genin kromozom üzerinde mutasyona uğraması ve antimikrobiyal ilaç varlığında seçilim baskısından kaynaklanır. RNA polimerazdaki hedef noktada oluşan mutasyonlar rifamisin direncine yol açarken, DNA giraz' daki mutasyonlar kinolon direncine sebep olur. Günümüzde, özellikle *gyrA* alt ünitesinde meydana gelen kromozomal mutasyonlar yaygın olarak bilinmektedir (130, 131).

**B) Alternatif Metabolik Yolun Kullanılması**

Bazı bakteriler, ilaca duyarlı olan hedefe olan gereksinimi ortadan kaldıracak yeni bir metabolik yol geliştirerek direnç kazanabilirler. Örneğin, trimetoprim/sülfametoksazol kombinasyonu, bakterinin yaşamı için önemli olan kromozom replikasyonunda görevli enzimleri inhibe eder. Bu durumda, bakteriler folat sentezlemek yerine çevreden hazır folat alarak alternatif bir metabolik yol kullanırlar (132).

**C) Hücre Zarı Geçirgenliğinin Azaltılması**

Antimikrobiyal ilaçların etkili olabilmesi için bakteri hücresine girmesi gereklidir. Gram negatif bakterilerde, antimikrobiyal ilaçların hücre içine girişi dış membrandaki porinler aracılığıyla gerçekleşir. Dış membran porinlerinde mutasyonlar sonucu geçirgenliğin azalması, dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olur. Kinolonlar, hedeflerine ulaşabilmek için Gram pozitif bakterilerde hücre duvarı ve sitoplazmik membranı, Gram negatif bakterilerde ise ayrıca dış membranı aşmak zorundadırlar (86).

**D) Aktif Pompalama ile İlacın Dışarı Atılması**

Bakterilerdeki aktif pompa sistemi proteinleri, besinlerin ve iyonların hücreye alınmasını, metabolik son ürünlerin ve zararlı maddelerin hücre dışına atılmasını ve bakterilerin çevreleriyle olan ilişkilerini düzenler. Bu dışa atım pompa proteinleri, bakterinin doğal direncine katkıda bulunur. Yüksek düzeyde sentezlenen bu proteinler, birçok antimikrobiyal ilaca, dezenfektana ve boyaya karşı tek adımda yüksek düzeyde çoklu ilaç direnci oluşumuna neden olabilirler (133).

**E) İlacın Enzimatik İnaktivasyonu**

Antimikrobiyal ilaçları parçalayan veya modifiye eden enzimlerin sentezlenmesi ile direnç gelişir. Hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakteriler, antimikrobiyal ilaçları parçalayan enzimler üretirler. Örneğin, aminoglikozitleri inaktive eden fosforilaz, asetilaz ve adenilaz enzimleri, kloramfenikolu inaktive eden asetil transferaz enzimi, eritromisini inaktive eden esteraz enzimi ve beta laktam antimikrobiyal ilaçları parçalayan beta laktamaz enzimi direnç gelişiminde önemli rol oynayan enzimlerdir (132).

### 2.3.2.1. Beta laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları

Beta laktam direncine sebep olabilen 3 mekanizma mevcuttur;

#### 2.3.2.1.1. Penisilin bağlanma proteinlerindeki değişimler

Kromozomlarda meydana gelen mutasyonlar nedeni ile beta laktam anitibiyotikler, yeni oluşan PBP' lere bağlanamadığı için etki gösteremezler (128)

#### 2.3.2.1.2. Aktif pompa sistemleri

Aktif pompalama sistemleri, düzenleyici genler tarafından kontrol edilir. Bu düzenleyici genlerde meydana gelen mutasyonlar, aktif dışa pompa sistemlerinin aşırı çalışmasına neden olarak antimikrobiyal ajanların hücre dışına atılmasına yol açar. Gram negatif bakterilerde, beta laktam molekülleri "Outer Membrane Protein" (OMP) olarak bilinen porin proteinleri aracılığıyla hücre içine alınır (131).

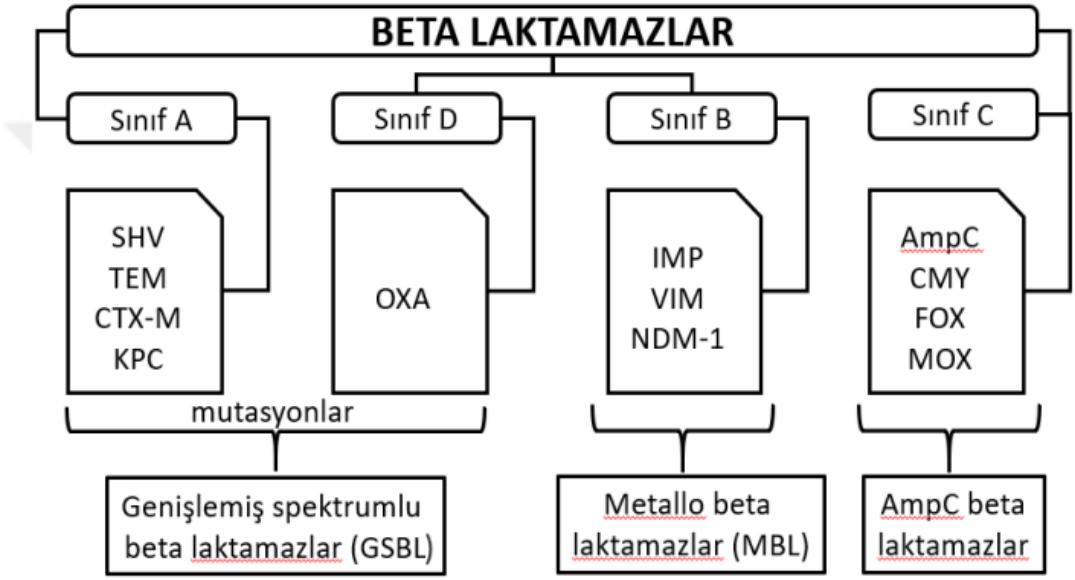
#### 2.3.2.1.3. Beta Laktamaz Enzimi Nedeniyle İlacın İnaktive Olması

Beta laktamazlar, etkilerini beta laktam halkasının hidrolizini sağlayarak gösterirler (134). Tıbbi uygulamalarda penisilin kullanılmadan önce, beta laktamaz ilk olarak *E. coli*' de tanımlanmıştır. Çoğu Gram negatif bakteride kromozom aracılı beta

laktamazlar doğal olarak bulunmaktadır (135). Bakteriler tarafından sentezlenen beta laktamazlar, beta laktam grubu antimikrobiyallere karşı en sık görülen direnç mekanizmalarından biridir (69).

Beta laktamazlar, A, B, C ve D olmak üzere dört farklı moleküler sınıfa ayrılmaktadır. A, C ve D sınıfı moleküller serin aktif bölge enzimleri iken, B sınıfı çinko bağımlı enzimlerden oluşur (69). Sınıf A beta laktamazlar genellikle sefalosporinler, penisilinler ve karbapenemlere karşı etkilidirler. Ancak, etkileri sefotaksim, seftazidim ve aztreonama karşı sınırlı olabilir.

Beta laktamaz enzimlerinin sınıflandırılması Şekil 4' te gösterilmiştir.




**Şekil 4.** Beta laktamazların sınıflandırılması (136)

**Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar:** Beta laktamazlar üretimi genellikle transpozonlar veya plazmidler üzerinde yer alan direnç genleri nedeniyle olmaktadır. Gram negatif bakterilerde bulunan TEM ve SHV genleri bu gruba örnektir. Bu enzimleri kodlayan genlerdeki nokta mutasyonları sonucunda GSBL tipi enzimler ortaya çıkar. Bu tip enzimler genellikle *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) gibi organizmalarda bulunur (137). Bugün için bilinen yaklaşık 350 beta laktamazdan 150 kadarı genişlemiş spektrumludur (85).

Ambler sınıflamasına göre sınıf A ve D, Bush- Jacoby gruplandırmasına göre Grup 2' de bulunan GSBL enzimleri, 3. Kuşak sefalosporinlerin kullanılmaya

başlandığı 1980’ li yıllarda bildirilmeye başlanmıştır. Günümüzde tanımlanan GSBL sayısı 600’ ü geçmektedir. Bu gruptaki enzimler, penisilin, birçok sefalosporin ve aztreonamı hidrolize edebilen; klavulonik asit veya tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olan ve yatay gen transferi yoluyla bakteriler arasında yayılabilen enzimlerdir (138).

GSBL’ lerin bir kısmı kromozomal olarak kodlanırken, önemli bir kısmı plazmidler aracılığı ile kodlanır ve transfer edilebilir. Klinik örneklerden izole edilen en yaygın türleri TEM, SHV ve CTX-M’ dir. Bunların dışında PER, VEB, GES, BES, BEL, TLA, SFO ve OXA gibi daha az yaygın beta laktamazlar da mevcuttur ve bunlara minör GSBL denir (139) (Tablo 1).

**Tablo 1**. Plazmid aracılı genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (139)

| Beta laktamaz adı | Tanımlandığı yıl | İsmin kökeni |
|---|---|---|
| **Eski GSBL** | | |
| SHV | 1983 | Sulphydryl variable |
| TEM | 1985 | ‘Temoneira’ isimli hasta |
| **Yeni GSBL** | | |
| CTX-M | 1989 | Cefotaximase-Münich |
| **Minör GSBL** | | |
| SFO-1 | 1988 | *Serratia fonticola* |
| TLA-1 | 1991 | ‘Tlahuicas’ isimli kabile |
| PER | 1991 | *Pseudomonas* extended resistance |
| VEB | 1996 | Vietnam ESBLs |
| BES-1 | 1996 | Brazilian ESBLs |
| GES | 1998 | Guyana ESBLs |
| BEL-1 | 2005 | Belgium ESBLs |
| TLA-2 | 2005 | TLA-1 ile %51 aminoasit benzerliği |
| OXA | 1991 | Oksasilin hidrolizi |

TEM (Temoneira) tipi beta laktamazlar ilk tanımlanan enzim sınıfıdır. Adını, izole edildiği Yunan kökenli ‘Temoneria’ ismindeki hastadan almıştır. TEM tipi beta laktamaz enzimi, yaklaşık 200 farklı varyasyona sahiptir. Bu varyasyonların 100' den fazlası GSBL özelliğine sahiptir (140). TEM tipi beta laktamazlar, penisilinler ve birinci kuşak sefalosporinlerden olan sefaloridin ve sefalotin'e direnç sağlar. Özellikle *E. coli* ve *K. pneumoniae* olmak üzere pek çok *Enterobacterales*’ den izole edilmiştir. Ayrıca, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Heamophilus influenzae*' nın penisilin türevi antibiyotiklere olan direnç artışı ile ilişkilendirilmiştir (135, 141). Konu ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında *E. coli*’ de TEM geninin bulunma oranı % 77,0 olarak rapor edilmiştir (142). Bir başka çalışmada ise bu oranın % 88,4 olduğu belirlenmiştir (143).

SHV (sulphydryl variable) tipi beta laktamazlarının ilk izolasyonu, 1983 tarihinde Almanya’ da *Klebsiella ozaena*’ dan yapılmıştır. Bu enzimlerin özellikle penisilin ve dar spektrumlu sefalosporinlere direnç gelişiminde rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca, bu enzimlerin, ampisiline karşı direncin yaklaşık % 20’ sinden sorumlu oldukları belirtilmektedir. SHV tipi beta laktamazlar 143 farklı varyasyon gösterirler (140). Bu enzimler sıklıkla *K. pneumoniae*’da, daha sonra ise *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'da izole edilmiştir (135, 138). Kiratisin ve arkadaşları, GSBL pozitif *E. coli* ile yaptıkları 235 vaka çalışmasında SHV geninin bulunma oranını % 3,8 olarak rapor etmişlerdir (142).

CTX-M (Cefotaximase Munich) tipi beta laktamazlar, ilk kez 1989 yılında Japonya'da izole edilen bir *E. coli* suşundan elde edilmiştir. Bu enzim, 100’ den fazla varyasyona sahip olup aminopenisilin grubuna, karboksi penisilinlere, üreidopenisilinlere ve dar spektrumlu sefalosporinlere yüksek düzeyde direnç göstermektedir (140). *Enterobacterales* türlerinden *E. coli* ve *K. Pneumoniae*’ da sıkça izole edilmekte ve hastane ilişkili enfeksiyonlarla yakından ilişkilendirilmektedir. Ayrıca, *Vibrio cholerae,* tifo harici *Salmonella* türleri ve *Shigella* spp.’ nin sebep olduğu bazı enfeksiyonlarda da tespit edilmiştir (144, 145). CTX-M tipi beta laktamazlar tüm dünyada hızlı bir artış göstermektedir. Bu durumun nedeni, bu enzimi kodlayan genin hareketli genetik elemanlar üzerinde bulunması ve CTX-M üreten bakterilerde aminoglikozid ve florokinolon direncinin (ko-resistan fenomen) birlikte

görülebilmesinin bu tür bakterilerin seçilimini kolaylaştırması olarak gösterilmektedir (146).

Direnç genlerinde gruplamaların yapılması, bu genlerin yayılımının takibi açısından önemlidir. Genetik dizilimine ve filogenetik ilişkilere göre CTX-M tipi beta laktamazlar 5 ana grupta incelenmektedir (146). Gruplar ve sık görülen bazı varyantları Tablo 2' de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** CTX-M grupları ve sık görülen bazı varyantlar (146)

| **CTX-M Grup** | **İçerdiği CTX-M Varyantlar** |
|---|---|
| **Grup 1** | CTX-M 1, CTX-M 3, CTX-M 10, CTX-M 12, CTX-M 15, CTX-M 32, CTX-M 55 |
| **Grup 2** | CTX-M 2, CTX-M 4, CTX-M 5, CTX-M 6, CTX-M 7, CTX-M 20, CTX-M 64 |
| **Grup 8** | CTX-M 8, CTX-M 40 |
| **Grup 9** | CTX-M 9, CTX-M 14, CTX-M 16, CTX-M 17, CTX-M 19, CTX-M 27, CTX-M 65 |
| **Grup 25** | CTX-M 25, CTX-M 26, CTX-M 39, CTX-M 60 |

Yapılan bir çalışmada CTX-M tipi beta laktamazların hızlı yayılım gösterdiği, hatta bazı bölgelerde diğer genotipik dirençlere üstünlük kurduğu saptanmıştır. Yine bu çalışmada özellikle CTX-M 14 ve CTX-M 15 tipi beta laktamazların çevresel adaptasyonunun yüksek olduğu, bu sebeple diğer varyantlardan daha sık görüldüğü belirtilmiştir (147).

CTX-M tipi beta laktamazların filogenetik, yapısal ve moleküler özelliklerini inceleyen bir çalışmada, CTX-M 151 enziminin diğer gruplardan farklılık gösterdiği, bu sebeple yeni bir grup olarak değerlendirilmesi gerektiği önerilmiştir (148).

Beta laktamazların hızlı yayılımı, sadece insan sağlığını değil, aynı zamanda hayvan sağlığını ve çevreyi de tehdit etmektedir. Tarımda ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerin, direnç genlerinin çevreye yayılmasına ve dirençli

bakterilerin oluşumuna katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bu durum, hayvanlardan insanlara doğrudan veya gıda zinciri aracılığıyla bulaşma riski taşır. Bu nedenle, antibiyotik direnciyle mücadelede insan sağlığı, veterinerlik ve çevre bilimleri arasındaki iş birliği büyük önem taşır. Bu konuya bütüncül yaklaşımı 'Tek sağlık' kavramı ele almaktadır (149).

### 2.4. Tek Sağlık

Tek Sağlık, çeşitli sağlık bilimi mesleklerinin işbirliğiyle insanlar, evcil hayvanlar, yaban hayatı, bitkiler ve çevre sağlığını korumayı hedefleyen bir yaklaşımdır. Antimikrobiyal direnç, insan, hayvan ve çevre sektörlerindeki antimikrobiyal kullanımının fazla olmasına veya suiistimal edilmesine bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Dirençli bakteriler çeşitli yollarla çevreye yayılmakta ve bu durum antimikrobiyal etkinliği tehdit etmektedir. İnsanlarda kullanılan antimikrobiyal ajanların çoğu hayvanlarda da kullanılmaktadır. Bu nedenle, antimikrobiyal direnç sorununu ele alırken 'Tek Sağlık' yaklaşımının benimsenmesi önem arz etmektedir. Tek Sağlık yaklaşımı, antimikrobiyallerin uygun olmayan kullanımını azaltmayı, enfeksiyonların yayılmasını kontrol altına almayı ve böylece antimikrobiyallerin etkinliğini uzun süre korumayı hedeflemektedir. Çeşitli ülkeler ve uluslararası kuruluşlar, antimikrobiyal direnci ele almak için Tek Sağlık yaklaşımını benimsemektedir. Bu bağlamda, antimikrobiyal kullanımını düzenleyen politikaların oluşturulması, sürveyans sistemlerinin kurulması, enfeksiyon kontrolünün ve sanitasyonun iyileştirilmesi gibi önlemler alınmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), gıda üreten hayvanlarda tıbbi olarak önemli antimikrobiyallerin kullanımını azaltmak ve çiftçilerin bilinçlenmesini teşvik etmek amacıyla kılavuzlar yayınlamıştır. Bu çabalar, antimikrobiyal etkinliğin korunmasına katkıda bulunmayı amaçlamaktadır (18).

Dünya Sağlık Örgütü 2015 yılında Dünya Sağlık Asamblesi, antimikrobiyal dirençle mücadele amacıyla küresel bir eylem planını kabul etmiştir. Bu plan, beş temel hedef etrafında şekillenmektedir:

- Antimikrobiyal direncin farkındalığını ve anlaşılmasını artırmak için etkili iletişim, eğitim ve eğitim programları.
- Gözetim ve araştırma yoluyla bilgi ve kanıt tabanını güçlendirmek.

- Etkili sanitasyon, hijyen ve enfeksiyon önleme tedbirleriyle enfeksiyon insidansını azaltmak.
- İnsan ve hayvan sağlığında antimikrobiyal ilaçların kullanımını optimize etmek.
- Tüm ülkelerin ihtiyaçlarını dikkate alan sürdürülebilir yatırımlar için ekonomik bir durum geliştirmek ve yeni ilaçlar, tanı araçları, aşılar ve diğer müdahalelere yatırım yapmayı artırmak.

Bu eylem planı, antimikrobiyal direnç tehdidiyle başa çıkmak için global ve koordineli bir yaklaşımın önemini vurgulamakta ve dünya genelinde ülkeleri bu yönde adımlar atmaya teşvik etmektedir (149).




**Şekil 5.** Tek sağlık kavramının şematik gösterimi (150)

# 3. MATERYAL VE METOD

## 3.1. Etik Kurul Onayı

Tez çalışmasının etik kurul onayı, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesin (RTEÜ) Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 01.06.2023 tarihli 2023/138 karar numarası ile bilimsel ve etik yönden uygun bulunmuştur. Etik kurul onayı EK-1'de verilmiştir.

## 3.2. Çalışmanın Özellikleri

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Mart 2023 - Mayıs 2023 tarihleri arasında gönderilen gaita örneklerinden izole edilen ampisiline dirençli *E. coli* suşlarının antimikrobiyal ajanlara direnç oranları, beta laktam direnç genleri (*bla*$_{TEM}$, *bla*$_{SHV}$ ve *bla*$_{CTX-M}$) ve suşların taşıdığı sınıf 1 ve sınıf 2 integron gen kasetlerinin moleküler analizlerinin yapılması amaçlanmıştır.

## 3.3. Çalışmaya Dahil Edilen Gruplar

Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen gaita örneklerinden izole edilen ampisilin dirençli *E. coli* suşları çalışmaya dahil edildi.

### 3.3.1. Çalışmaya Dahil Edilme/Edilmeme Ölçütleri

Araştırmaya kabul edilme kriterleri:

- Mart 2023 – Mayıs 2023 tarihlerinde gaita örneklerinden izole edilen ampisilin dirençli *E. coli* suşları
- Aynı kişiye ait tekrarlayan örneklerden izole edilen ilk izolat
- Kişilerin örnek vermeden önce 3 ay süresince antibiyotik kullanmamış olması

Araştırmaya kabul edilmeme kriterleri:

- Aynı kişiye ait tekrarlayan örneklerde, ilk örnek harici örnekler
- Kişilerin örnek vermeden önce 3 ay süresince antibiyotik kullanmış olması

### 3.4. Ampisiline Dirençli (Amp$^r$) *E. coli* Suşlarının Seçimi, İdentifikasyonu ve Saklanması

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Mart 2023 – Mayıs 2023 tarihleri arasında gelen gaita örnekleri Eozin Metilen Blue (EMB) agara (RTA, Türkiye) inoküle edildi. 24 saat inkübasyon sonucunda morfolojik olarak *E. coli*' ye benzeyen kolonilerin, 100 µg/mL ampisilin içeren Luria Bertani (LB) besiyerine ekimleri yapıldı. 24 saat inkübasyon sonucunda besiyerinde üreyen koloniler, VITEK 2 (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemi ile tür düzeyinde tanımlandı. İzolatların antimikrobiyal duyarlılıkları VİTEK 2 otomatize sisteminde GN N420 kartı kullanılarak test edildi. *Escherichia coli* olarak tanımlanan ve antimikrobiyal testleri yapılan suşların LB sıvı besiyeri kültürleri % 20 gliserol katılarak -80 $^oC$' de stoklandı.

### 3.5. Suşların Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması

Suşların antimikrobiyal hassasiyet testleri amoksisilin/klavulanik asit, piperasilin/tazokbaktam, sefuroksim, sefoksitin, seftazidim, seftriakson, sefepim, ertapenem, meropenem, amikasin, gentamisin, siprofloksasin ve trimetoprim/sulfametoksazol olmak üzere 13 antibiyotiğe karşı tespit edildi. Suşların her birinin taze kültür pasajlarından steril eküvyon ile alınan kolonilerden, 3 mL steril % 0.9 NaCl (serum fizyolojik-SF) solüsyonu içeren tüplere 0,5 McFarland bulanıklığına eş değer bakteri süspansiyonu (~$1.5x10^8$ CFU/mL) hazırlandı. Bu süspansiyondan 140 µl alınıp 3 ml SF solüsyonu içeren başka bir steril tüpe aktarıldı. Bu şekilde hazırlanan örnekler otomatize sisteme yüklendi ve elde edilen sonuçlar EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing 2023) rehberine göre duyarlı, yüksek doza duyarlı ve dirençli olarak kategorize edildi (151).

#### 3.5.1. Çift Disk Sinerji Testiyle GSBL Tayini

Test sonuçlarına göre, 3. ve 4. kuşak sefalosporinlere dirençli olan suşların GSBL üretimini belirlemek amacıyla, Mueller Hinton agara (HiMedia, Hindistan) sefotaksim 30 µg (Bioanalyse, Türkiye) ve amoksisilin/klavulonat 30 µg (Bioanalyse, Türkiye) diskleri, birbirine 2 cm mesafeyle yerleştirildi. Besiyeri 37°C' de 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyonun ardından diskler arasındaki zon genişlemesi incelenerek GSBL üretimi değerlendirildi (152).

### 3.6. Kromozomal DNA izolasyonu

Sıvı besiyerinde üretilen suşlardan kromozomal DNA izolasyonu için Chen ve arkadaşlarının tarifleri ve bazı küçük modifikasyonlarla yapıldı (153).

- Luria–Bertani (LB) sıvı besiyerinde (%1 tripton, %0.5 maya özütü, %0.5 NaCl, pH 7,4) yapılan kültürlerden 1,5 mL mikrosantrifüj tüplerine alınarak 10.000 rpm' de 1 dakika santrifüj edildi.

- Pellet 200 µl lizis tamponu (40 mM Tris pH:7,5, 20 mM sodyum asetat, 1 mM EDTA ve % 1 sodyum dodesil sülfat) ile resüspanse edildi. Lizis tamponu eklendikten sonra tüpler 1-2 dakika süre ile karıştırıldı.

- Lizat üzerine 70 µl 5 M NaCl konuldu, tüpler el ile dikkatlice alt üst edilerek karıştırıldı ve 13.000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi.

- Temiz lizattan, yaklaşık 200 µL steril başka bir mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve üzerine 300 µL TE (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 1mM EDTA, pH 8.0) tamponu ilave edildi.

- Üzerine eşit miktarda tamponlu fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1)' den ilave edildikten sonra tüp dikkatlice yaklaşık 50 kez alt üst edilerek karıştırıldı. 13.000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi ve üst faz başka bir steril mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

- Lizat hacminin yaklaşık iki katı kadar (1000 µL) % 96' lık soğuk etanol ilave edilerek tüpler -80$^{o}$C' de 30 dakika boyunca bekletildi.

- Süre sonunda tüpler 13.000 rpm' de 5 dakika santrifüj edilerek DNA presipite edildi.

- Süpernatant kısım atıldıktan sonra presipitat üzerine 500 µL % 70' lik soğuk etanol eklenerek 13.000 rpm' de 1 dakika santrifüj edildi.

- Süpernatant atılarak etanol kalmaması için pellet kurutulmaya bırakıldı.

- Pellet üzerine 10 µL RNaz A (10 mg/mL) ve 70 µL TE tamponu ilave edilerek 56$^{o}$C' de 25-30 dakika inkübe edildi.

- İnkübasyon sonunda kullanılıncaya kadar -20$^{o}$C' de saklandı. Hazırlanan kromozomal DNA' lar % 0,8' lik agaroz jelde görüntülendi.

### 3.7. Kullanılan Oligonükleotid Primerler ve Özellikleri

Direnç genlerinin ve integronların tespiti için Tablo 3' te gösterilen primerler kullanıldı.

**Tablo 3.** PZR deneylerinde kullanılan oligonükleotid primerleri

| Primer Adı | Nükleotid Dizisi (5'→3')* | Hedef Gen Bölgesi | Ürün Büyüklüğü (bç) | Kaynak |
|---|---|---|---|---|
| **CTXM-F** | ATGTGCAGYACCAGTAARGTKATGGC | *bla*$_{\text{CTX-M}}$ | 593 | (154) |
| **CTXM-R** | TGGGTRAARTARGTSACCAGAAYCAGCGG | | | |
| **TEM-F** | ATGAGTATTCAACATTTCCG | *bla*$_{\text{TEM}}$ | 847 | (155) |
| **TEM-R** | CCAATGCTTAATCAGTGAGG | | | |
| **SHV-F** | TTATCTCCCTGTTAGCCACC | *bla*$_{\text{SHV}}$ | 843 | (155) |
| **SHV-R** | GATTTGCTGATTTCGCTCGG | | | |
| **IntI-1F** | GGGTCAAGGATCTGGATTTCG | Sınıf 1 integron integraz geni (*intI1*) | 491 | (156) |
| **IntI-1R** | ACATGCGTGTAAATCATCGTCG | | | |
| **IntI-2F** | CACGGATATGCGACAAAAAGGT | Sınıf 2 integron integraz geni (*intI2*) | 788 | (156) |
| **IntI-2R** | GTAGCAAACGAGTGACGAAATG | | | |
| **5'-CS** | GGCATCCAAGCAGCAAG | Sınıf 1 integron değişken bölge | Değişken | (157) |
| **3'-CS** | AAGCAGACTTGACCTGA | | | |
| **Hep51** | GATGCCATCGCAAGTACGAG | Sınıf 2 integron değişken bölge | Değişken | (158) |
| **Hep74** | CGGGATCCCGGACGGATGCACGATTTGTA | | | |

* Dejenere primerlerdeki Y: T veya C, R: G veya A, K: G veya T, S: G veya C

### 3.8. PZR ile Direnç Genlerinin ve İntegronların Gösterilmesi

Tüm PZR' lerin termosayklır (Applied Biosystems, Veriti, Amerika) döngü parametrileri Tablo 4' te gösterildi. Reaksiyonlarda pozitif kontrol olarak TEM tipi beta laktamaz geni için K. pneumoniae TRE 40 (159), SHV tipi beta laktamaz geni için E. coli TRE73 (159), CTX-M tipi beta laktamaz geni için E. coli HEC11 (160), integraz 1, integraz 2 ile sınıf bir ve sınıf 2 integron değişken bölgeleri için E. coli ACC172 (161) suşları kullanıldı.

**Tablo 4.** PZR' lerde kullanılan döngü koşulları

| **Aşama** | **Genler** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Sıcaklık°C/Süre(dk/sn)/ Döngü** | | | | | |
| | ***intI 1* ve *intI 2*** | **Sınıf 1 integron değişken bölge** | **Sınıf 2 integron değişken bölge** | ***bla*$_{TEM}$** | ***bla*$_{SHV}$** | ***bla*$_{CTX-M}$** |
| **İlk Denatürasyon** | 94(5dk) | 94(2dk) | 94(3dk) | 94(5dk) | 94(5dk) | 94(2dk) |
| **a) Denatürasyon** | 94(1dk) | 94(30sn) | 94(45sn) | 94(1dk) | 94(1dk) | 95(20sn) |
| **b) Bağlanma** | 57(1dk) | 56(45 sn) | 55(1dk) | 55(1dk) | 55(1dk) | 51(30sn) |
| **c) Uzama** | 72(1dk) | 72(2dk) | 72(2dk) | 72(1dk) | 72(1dk) | 72(30sn) |
| **Son uzama** | 72(10 dk) | 72(5dk) | 72(5dk) | 72(7dk) | 72(7dk) | 72(3dk) |
| **Döngü sayısı (a, b, c)** | 34 | 34 | 34 | 34 | 34 | 35 |

PZR için 2X master mix (R&D Lab, Türkiye) ile birlikte yapılmak istenen reaksiyona spesifik primer çiftleri katılarak kullanıldı. Tüm reaksiyonlar için kullanılan bileşenlerin içeriği ve miktarları Tablo 5' te gösterildi.

**Tablo 5**. Reaksiyon içeriği

| **Bileşenler** | **1X Miktar (µL)** |
|---|---|
| 2X master mix | 11,5 |
| Primer 1 | 0,5 |
| Primer 2 | 0,5 |
| Kalıp DNA | 0,5 |
| Deiyonize su | 12 |
| Toplam reaksiyon hacmi | 25 |

### 3.8.1. Agaroz Jel Elektroforezi

Amplifikasyon işlemlerinin ardından PZR ürünlerinin görüntülenmesi için %1'lik agaroz jel hazırlandı. Jelin hazırlanması için 1X Tris-Asetat-EDTA (TAE) tamponu (40mM Tris, 20mM Asetat ve 1mM EDTA, pH ~8.5) ve agaroz (Vivantis, Malezya) kullandı. Mikrodalga fırınında (Bosch, Türkiye) agaroz çözünüp homojen olana kadar ısıtma işlemine devam edildi. Daha sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakıldıktan sonra 0.5 µg/mL etidyum bromür (Amresco, Amerika) katıldı ve iyice karıştırıldı. Oluşan jel tablaya dikkatlice döküldü ve yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirildi. Jelin katılaşması için 30-40 dk bekledikten sonra taraklar nazik bir şekilde çıkartıldı. İçinde 1X TAE tamponu olan elektroforez tankına (Cleaver, İngiltere) yerleştirildi. PZR ürünleri 5-10 µL kuyucuklara yüklendi. Elektroforez tankı güç kaynağına bağlandıktan sonra 70 V akımda 50-60 dk yürütüldü. Oluşan bantlar ultraviyole transillüminatörde (Vilber Lourmat, Hollanda) gözlendi ve jel görüntüleme ve dökümantasyon sisteminde (DNR, MiniLumi, İsrail) fotoğraflandı.

## 3.9. İntegron Gen Kasetlerinin DNA Dizi Analizleri

### 3.9.1. İntegronların Agaroz Jelden Saflaştırılması

Amplikonlar görüntülendikten sonra sekans analizine gönderilebilmesi için jelden saflaştırma işlemine geçildi. Bu işlem için GeneAll jel ekstraksiyon kiti (Expin$^{TM}$, GeneAll, Güney Kore) kullanıldı. Söz konusu kitin protokolü aşağıda anlatılmıştır:

- % 1' lik agaroz jelden ilgili bant steril bisturi yardımıyla kesilerek darası alınan ependorf tüplere alındı.
- Ağırlıkları ölçülen bantların, ağırlıklarının 3 katı miktarında 'Gel solubilization' solüsyonu konuldu.
- 50°C' de 10 dk bekletildikten sonra ependorf tüplerdeki jelin tamamen eridiği görüldü.
- Filtrelere alınan sıvılar 10000 rpm' de 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Filtre üzerine 700 µL TW yıkama solüsyonu kondu ve 10000 rpm' de 30 sn santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Etanolün iyice uçması için filtreler boş olarak 10000 rpm' de 1 dk santrifüj edildi.

- Steril ependroflara alınan filtrelerin üstüne ‘Elution buffer’ dan 50 µL eklendi.
- 1 dk oda sıcaklığında bekleyen tüpler daha sonra 10000 rpm’ de 1 dk santrifüj edildi.
- Elde edilen ürün agaroz jel elektroforezinde görüldükten sonra sekans analizine kadar -20°C’ de saklandı.

### 3.9.2. DNA Dizi Analizi ve Biyoinformatik

Agaroz jelden temizlenen PZR ürünleri MacroGen (Amsterdam, Hollanda) firmasına gönderildi. Elde edilen FASTA formatındaki DNA dizi analizi verileri, Expasy translate (https://web.expasy.org/translate/ 02.08.2024 tarihinde girildi) kullanılarak protein aminoasid sekansına çevrildi. Anlamlı (ORF, open reading frame) sekanslar BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome 02.08.2024 tarihinde girildi) kullanılarak değerlendirildi. Yapılan analizler sonucunda integronların değişken bölgelerine giren gen kasetleri belirlendi.

### 3.10. İstatistiksel Analiz

Çalışmaya dahil edilen suşlar ile ilgili tanımlayıcı istatistikler SPSS 25.0 (SPSS Inc, Chıcago, USA) kullanılarak analiz edildi. Tanımlayıcı istatistikler sayı (n), yüzde (%), ortalama ve standar sapma olarak belirtildi. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Pearson’s ki-kare ve Fisher’s exact testi kullanıldı. P değeri <0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

# 4. BULGULAR

## 4.1. Hastaların Demografik Özellikleri

Çalışmada belirtilen zamanda (bkz. 3.3.1.) gelen kriterlere uygun, yaş ortalamaları 41,5±14,2 olan kişilerden sağlanan 123 adet gaita örneği kullanılmış olup, izole edilen 65 adet $Amp^r$ *E. coli* suşu çalışmaya dahil edilmiştir.

## 4.2. İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıkları

Suşların VİTEK 2 otomatize sistemi ile elde edilen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 6' da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Ampisiline dirençli *E. coli* suşlarının VITEK 2 ile saptanan antibiyotik duyarlılık sonuçları (yüksek doza duyarlı olarak saptanan suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir).

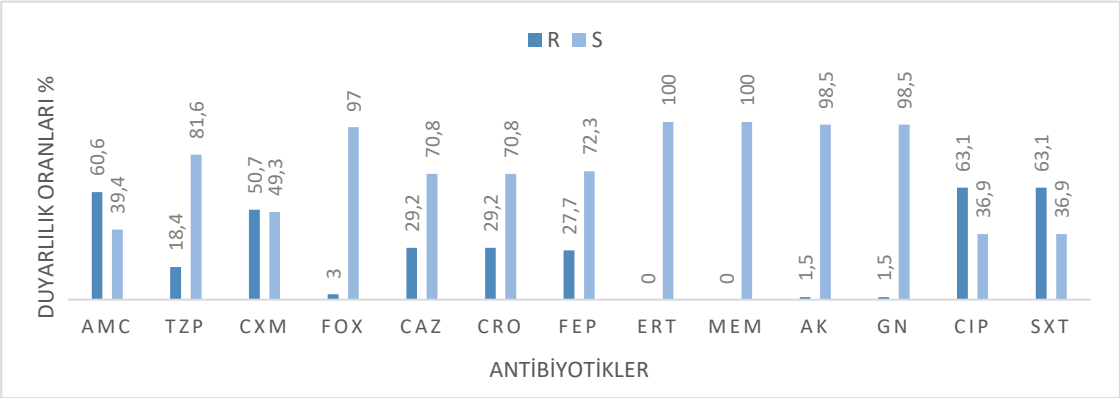
| No | *E. coli* suşu | Antibiyotikler | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | AMC | TZP | CXM | FOX | CAZ | CRO | FEP | ERT | MEM | AK | GN | CIP | SXT |
| 1 | REC01 | R | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| 2 | REC02 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| 3 | REC03 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 4 | REC04 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 5 | REC05 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 6 | REC06 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 7 | REC07* | R | R | R | R | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| 8 | REC08* | R | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| 9 | REC09* | R | S | R | R | R | R | S | S | S | S | S | R | R |
| 10 | REC10 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 11 | REC11 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| 12 | REC12 | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 13 | REC13 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 14 | REC14 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 15 | REC15 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 16 | REC16 | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| 17 | REC17 | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| 18 | REC18 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 19 | REC19* | R | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| 20 | REC20 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 21 | REC21* | R | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | S | R |
| 22 | REC22 | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **23** | **REC23** | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| **24** | **REC24** | S | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **25** | **REC25*** | R | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| **26** | **REC26** | R | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **27** | **REC27** | S | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| **28** | **REC28** | R | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **29** | **REC29** | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| **30** | **REC30*** | S | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | S |
| **31** | **REC31** | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **32** | **REC32** | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **33** | **REC33** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| **34** | **REC34*** | S | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| **35** | **REC35*** | S | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | S |
| **36** | **REC36** | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **37** | **REC37*** | R | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | S | R |
| **38** | **REC38*** | R | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| **39** | **REC39** | R | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **40** | **REC40*** | S | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | S |
| **41** | **REC41** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| **42** | **REC42** | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **43** | **REC43** | R | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| **44** | **REC44*** | R | R | R | S | R | R | R | S | S | R | R | R | R |
| **45** | **REC45** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| **46** | **REC46** | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |
| **47** | **REC47** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **48** | **REC48** | R | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **49** | **REC49** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| **50** | **REC50*** | R | R | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **51** | **REC51** | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **52** | **REC52*** | R | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | S |
| **53** | **REC53** | S | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **54** | **REC54** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| **55** | **REC55** | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| **56** | **REC56** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R |
| **57** | **REC57** | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| **58** | **REC58*** | S | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | S | R |
| **59** | **REC59*** | R | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| **60** | **REC60*** | S | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| **61** | **REC61*** | S | S | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| **62** | **REC62** | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| **63** | **REC63** | S | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| **64** | **REC64** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| **65** | **REC65** | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S |

*: GSBL üreten suşlar, AMC: Amoksisilin/klavulanik asit, TZP: Piperasilin/tazokbaktam CXM: Sefuroksim, FOX: Sefoksitin, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, FEP: Sefepim, ERT: Ertapenem, MEM: Meropenem, AK: Amikasin, GN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Trimetoprim/sulfametoksazol, R: Dirençli, S: Hassas

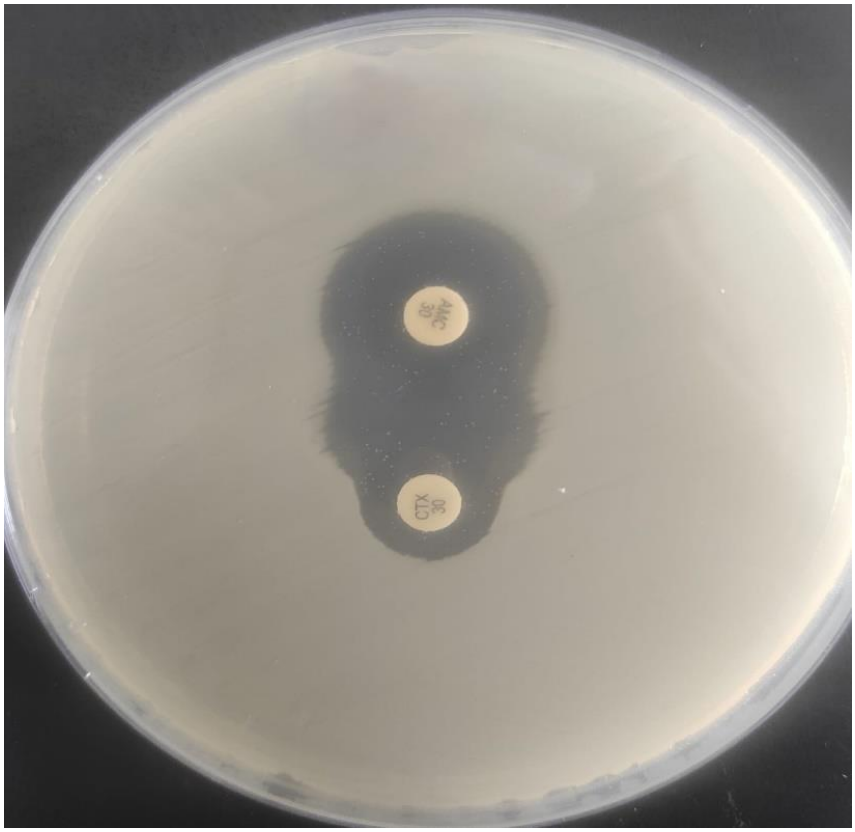
65 Amp$^r$ *E. coli* suşunun çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılık oranları Şekil 6' da gösterilmiştir.




AMC: Amoksisilin/klavulonat, TZP: Piperasilin/tazokbaktam CXM: Sefuroksim, FOX: Sefoksitin, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, FEP: Sefepim, ERT: Ertapenem, MEM: Meropenem, AK: Amikasin, GN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Trimetoprim/sülfametoksazol, R: Dirençli, S: Duyarlı.

**Şekil 6.** Amp$^r$ *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları oranları.

Çalışmadaki 65 Amp$^r$ *E. coli* suşunun 19 (%29,2)' unun ÇDST (Resim 1) sonuçlarına göre GSBL ürettiği tespit edildi.




**Resim 1.** Çift disk sinerji testi (Orijinal Fotoğraf)

### 4.3. Beta Laktamaz Genleri ve İntegronlar için PZR

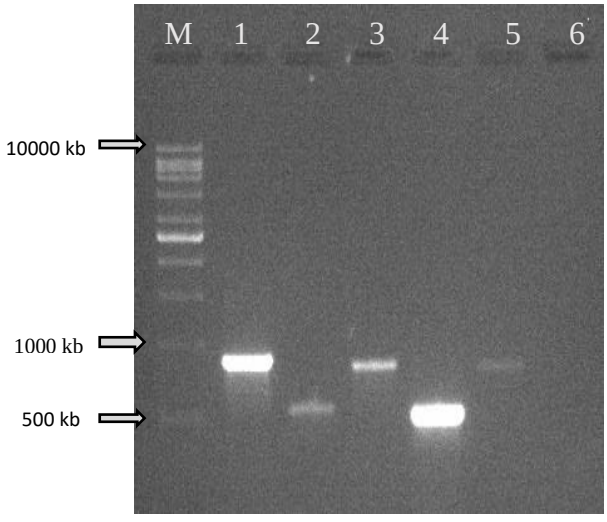
TEM, SHV ve CTX-M genlerinin varlığının belirlenmesi için ilgili gene spesifik primerler kullanılarak PZR işlemi gerçekleştirildi. Buna göre 65 adet Amp$^r$ *E. coli* suşunun 39 (% 60) tanesinin TEM, 1 (% 1,5) tanesinin SHV ve 16 (% 24,6) tanesinin CTX-M genleri taşıdıkları tespit edildi. Beta laktamaz genlerinden sadece bir çeşit gene sahip olan 37 (% 56,9) suş saptanırken, iki ayrı beta laktamaz geni içeren 9 (% 13,8) suş tespit edildi. Çalışmamızda 3 farklı beta laktamaz geni içeren suş bulunmadı (Tablo 7).

**Tablo 7.** Amp$^r$ *E. coli* suşlarında tespit edilen beta laktamaz geni sıklığı

| Genler | Sayı (n) | Sıklık (%) |
|---|---|---|
| *bla*$_{TEM}$ | 39 | 60 |
| *bla*$_{SHV}$ | 1 | 1,5 |
| *bla*$_{CTX-M}$ | 16 | 24,6 |
| 1 gen içeren | 37 | 56,9 |
| 2 gen içeren | 9 | 13,8 |
| *bla*$_{TEM}$ + *bla*$_{CTX-M}$ | 8 | 12,3 |
| *bla*$_{TEM}$ + *bla*$_{SHV}$ | 1 | 1,5 |
| *bla*$_{CTX-M}$ + *bla*$_{SHV}$ | 0 | 0 |

### 4.4. *intI1* ve *intI2* İçin PZR' ler

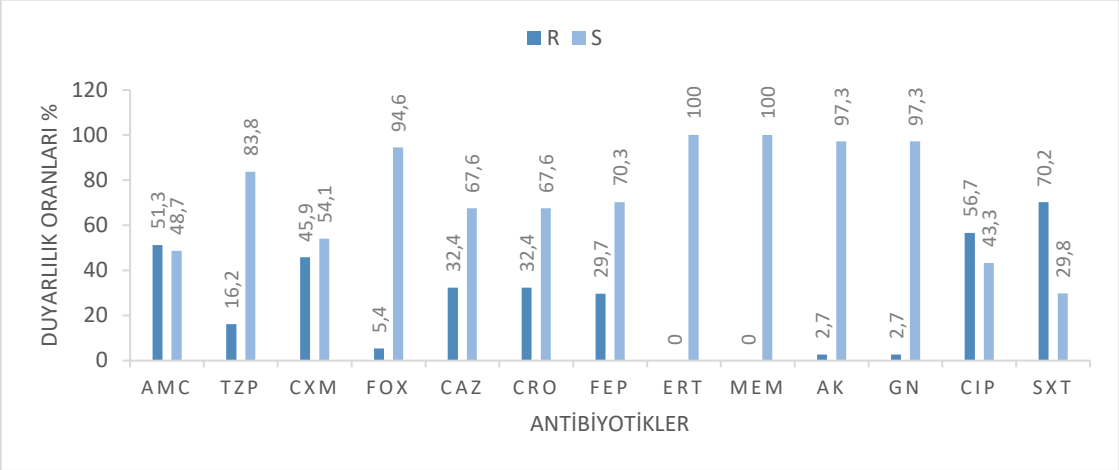
Altmış beş Amp$^r$ *E. coli* suşunun 37 (% 56,9)'sinde *intI1* geni, 1 (% 1,5)'inde *intI2* geni tespit edildi (Resim 2).




**Resim 2.** Beta laktamaz genleri (*bla*$_{TEM}$, *bla*$_{CTX-M}$ ve *bla*$_{SHV}$) ile sınıf 1 ve sınıf 2 integronların integraz genlerinin (*intI1* ve *intI2*) PZR amplikonları. M: 100 kb DNA ladder (Vivantis), 1: *bla*$_{TEM}$ gen ürünü (847bç) [TRE40, (159)], 2: *bla*$_{CTX-M}$ gen ürünü

(593 bç) [HEC11, (160)], 3: *bla*$_{SHV}$ gen ürünü (843 bç) [TRE73, (159)], 4: *intI1* gen ürünü (491 bç) [ACC172, (161)], 5: *intI2* gen ürünü (788 bç) [ACC172 (161)], 6: Negatif kontrol

Sınıf 1 ve sınıf 2 integron içeren 37 suşun (%56,9) antibiyotiklere karşı duyarlılık oranları Şekil 7' de gösterilmiştir.




AMC: Amoksisilin/klavulonat**,** TZP: Piperasilin/tazobaktam**,** CXM: Sefuroksim, FOX: Sefoksitin, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, FEP: Sefepim, ERT: Ertapenem, MEM: Meropenem, AK: Amikasin, GN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Trimetoprim/sülfametoksazol, R: Dirençli, S: Duyarlı

**Şekil 7.** Sınıf 1 ve sınıf 2 integron içeren 37 Amp$^r$ *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık oranları

İntegron içeren suşlar ile içermeyen suşların her bir antibiyotiğe karşı gösterdiği direnç oranları karşılaştırılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 8' de sunulmuştur.

**Tablo 8.** İntegron içeren suşlar ile içermeyen suşların antimikrobiyal direnç oranlarının karşılaştırması

| **Antibiyotik** | | **İntegron pozitif n=37** | **İntegron negatif n=28** | ***p* değeri** |
|---|---|---|---|---|
| | | **n(%)** | **n(%)** | |
| AMC | R | 19 (51,4) | 20 (71,4) | 0,102[a] |
| | S | 18 (48,6) | 8 (28,6) | |
| TZP | R | 6 (16,2) | 6 (21,4) | 0,592[a] |
| | S | 31 (83,8) | 22 (78,6) | |
| CXM | R | 17 (45,9) | 17 (60,7) | 0,238[a] |
| | S | 20 (54,1) | 11 (39,3) | |
| FOX | R | 2 (5,4) | 0 (0) | 0,502[b] |
| | S | 35 (94,6) | 28 (100) | |
| CAZ | R | 12 (32,4) | 7 (25) | 0,514[a] |
| | S | 25 (67,6) | 21 (75) | |
| CRO | R | 12 (32,4) | 7 (25) | 0,514[a] |
| | S | 25 (67,6) | 21 (75) | |
| FEP | R | 11 (29,7) | 7 (25) | 0,673[a] |
| | S | 26 (70,3) | 21 (75) | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ERT | R | 38 (100) | 28 (100) | - |
| | S | 0 (0,0) | 0 (0,0) | |
| MEM | R | 37 (100) | 28 (100) | - |
| | S | 0 (0,0) | 0 (0,0) | |
| AK | R | 1 (2,7) | 0 (0) | 1,000[b] |
| | S | 36 (97,3) | 28 (100) | |
| GN | R | 1 (2,7) | 0 (0) | 1,000[b] |
| | S | 36 (97,3) | 28 (100) | |
| CIP | R | 21 (56,8) | 20 (71,4) | 0,225[a] |
| | S | 16 (43,2) | 8 (28,6) | |
| SXT | R | 26 (70,3) | 16 (57,1) | 0,273[a] |
| | S | 11 (29,7) | 12 (42,9) | |

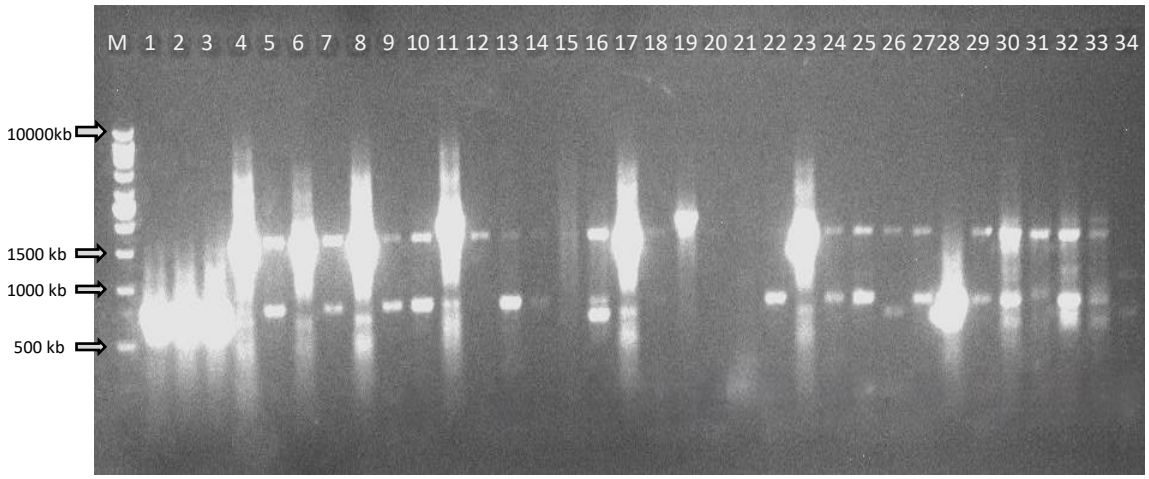
Kısaltmalar Şekil 7'de verilmiştir. a: Pearson's Ki-kare testi, b: Fisher's Exact test, $p<0,05$.

Yapılan analizlere göre integron içeren ve içermeyen suşlar arasında antimikrobiyal direnç olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Her iki grupta da karbapenem grubu antibiyotiklere dirençli suş bulunmadığı için istatistiksel analiz yapılamamıştır. Tabloda frekans değerlerinin 0 olarak saptandığı gruplar için Fisher exact testi uygulanmış olup bu durum istatistiksel analiz sonucunu etkilemiş olabilir.

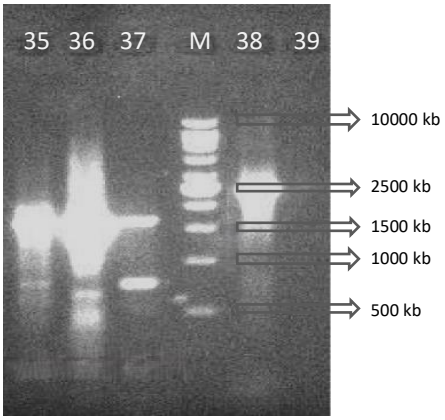
### 4.6. İntegronlar ve İçerdikleri Gen Kasetleri

Sınıf 1 ve sınıf 2 integron içeren 37 suşun değişken bölgelerinin PZR ürünleri Resim 3 a ve b' de gösterilmiştir.

**a)**



**b)**




**Resim 3.** Suşlardaki sınıf integronların değişken bölgelerinin agaroz jel elektroforezi. Kuyucuk 1-34 sınıf 1 integronların değişken bölgeleri. **(a)** M: 100 kb Ladder (Vivantis, MY), 1: REC3, 2: REC4, 3: REC5, 4: REC7, 5: REC8, 6: REC9, 7: REC10, 8: REC14, 9: REC15, 10: REC16, 11: REC17, 12: REC18, 13: REC19, 14: REC20, 15: REC21, 16: REC30, 17: REC31, 18: REC32, 19: REC34, 20: REC36, 21: REC42, 22: REC43, 23: REC44, 24: REC45, 25: REC46, 26: REC47, 27: REC48, 28: REC49, 29: REC55, 30: REC57, 31: REC58, 32: REC59, 33: REC60, 34: REC61. **(b)** Kuyucuk 35-37 sınıf 1 integronların değişken bölgeleri, kuyucuk 38 sınıf 2 integronun değişken bölgesidir. M: 100 kb Ladder (Vivantis, MY), 35: REC63, 36: REC64, 37: REC65, 38: REC8, 39: Negatif Kontrol.

Hem sınıf 1 hem de sınıf 2 integron taşıyan GSBL üretici bir suş (REC 8) saptanmıştır (Tablo 9). Sınıf 1 integrazı pozitif saptanan 37 adet *E. coli* suşunun 3 tanesinde değişken bölgelerde antibiyotik direnç genleri saptanmazken (boş integron), 34 tanesinde tespit edilmiştir. Değişken bölgelerin DNA dizi analizleri sonucunda *aadA1, dfrA7, dfrA17, lnuF ve bla*$_{\text{OXA-1}}$ gen kasetlerini içerdikleri belirlenmiştir (Tablo 9).

**Tablo 9**. İzolatlardaki beta laktamaz genleri, integronlar ve DNA dizi analiz sonuçları

| *E. coli* Suşu | Beta-Laktamaz Genleri ve İntegronlar | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ***bla*$_{TEM}$** | ***bla*$_{SHV}$** | ***bla*$_{CTX-M}$** | ***intI1*** | ***intI2*** | **Sınıf 1 integron(lar) (~bç)** | **Sınıf 1 integron gen kasetleri** | **Sınıf 2 integron (~bç)** | **Sınıf 2 integron gen kasetleri** |
| **REC01** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC02** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC03** | - | - | - | + | - | 600 | *dfrA7* | | |
| **REC04** | + | - | - | + | - | 600 | *dfrA7* | | |
| **REC05** | + | - | - | + | - | 600 | *dfrA7* | | |
| **REC06** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC07*** | - | - | + | + | - | 1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC08*** | + | - | + | + | + | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | 2500 | *aadA1, lnuF* |
| **REC09*** | - | - | + | + | - | 1600 | *aadA1, dfrA17* | | |
| **REC10** | + | - | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC11** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC12** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC13** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC14** | + | - | - | + | - | 600/1600 | *aadA1, dfrA17* | | |
| **REC15** | + | - | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC16** | + | - | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC17** | - | - | - | + | - | 700/1700 | *aadA1, bla*$_{OXA-1}$ | | |
| **REC18** | + | - | - | + | - | 1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC19*** | + | - | + | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **REC20** | + | - | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC21*** | + | - | + | + | - | Boş integron | | | |
| **REC22** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC23** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC24** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC25*** | - | - | + | - | - | | | | |
| **REC26** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC27** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC28** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC29** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC30*** | + | - | - | + | - | 600/700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC31** | + | - | - | + | - | 600/1600 | *aadA1, dfrA17* | | |
| **REC32** | - | - | - | + | - | 1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC33** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC34*** | - | - | + | + | - | 1700 | *aadA1*, $bla_{\text{OXA-1}}$ | | |
| **REC35*** | - | - | + | - | - | | | | |
| **REC36** | - | - | - | + | - | Boş integron | | | |
| **REC37*** | + | - | + | - | - | | | | |
| **REC38*** | + | - | + | - | - | | | | |
| **REC39** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC40*** | - | - | + | - | - | | | | |
| **REC41** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC42** | - | - | - | + | - | Boş integron | | | |
| **REC43** | - | - | - | + | - | 700 | *aadA1, dfrA7* | | |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **REC44*** | - | - | + | + | - | 1600 | *aadA1, dfrA17* | | |
| **REC45** | + | - | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC46** | - | - | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC47** | + | - | - | + | - | 600/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC48** | + | + | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC49** | + | - | - | + | - | 600 | *dfrA7* | | |
| **REC50*** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC51** | - | - | - | - | - | | | | |
| **REC52*** | - | - | + | - | - | | | | |
| **REC53** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC54** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC55** | + | - | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC56** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC57** | - | - | - | + | - | 600/700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC58*** | + | - | + | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC59*** | - | - | - | + | - | 600/700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC60*** | + | - | + | + | - | 600/700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC61*** | + | - | + | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC62** | + | - | - | - | - | | | | |
| **REC63** | + | - | - | + | - | 600/1600 | *aadA1, dfrA17* | | |
| **REC64** | + | - | - | + | - | 700/1600 | *aadA1, dfrA7* | | |
| **REC65** | + | - | - | + | - | 600/700 | *aadA1, dfrA7* | | |

*: GSBL üreten suşlar, *aadA1*:Aminoglikozid adeniltransferaz A1, *dfrA7*: Dihidrofolat redüktaz tip 7, *dfrA17*: Dihidrofolat redüktaz tip 17, *lnuF*: Linkozamid nükleotidiltransferaz F, *bla*$_{\text{OXA-1}}$: Oksasilin-1

# 5. TARTIŞMA

Antimikrobiyal direnç tüm canlıları etkileyen bir durum olmakla birlikte uluslararası sağlık kuruluşları tarafından yapılan modellemeler neticesinde, mevcut uygulamalar değişmezse, 2050 yılına kadar her yıl 10 milyon insanın dirençli enfeksiyonlar sebebi ile hayatını kaybedeceği öngörülmektedir (162). Antimikrobiyal dirençle ilgili yerel araştırmaların yaygınlaşması ve elde edilen verilerin irdelenerek ulusal direnç profillerinin ortaya konması, konu ile ilgili gelecekte oluşturulacak sağlık politikalarının belirlenmesi açısından önemlidir.

Rize ilinde , çeşitli hasta örneklerinden izole edilen kinolon dirençli 153 adet *E. coli* ile 2019 yılında yapılan bir çalışmada mevcut çalışma ile uyumlu olarak seftazidim direnci % 58,2, amoksisilin/klavulonat direnci % 41,2, piperasilin/tazobaktam direnci % 17,6 olarak saptanmıştır (163). Öte yandan Katar' da yemekhanede görev yapan personelin gaita örneklerinin incelendiği bir çalışmada sülfametoksazole % 33,3, trimetoprime % 30,8, siprofloksasine % 14,2 ve seftriaksona % 9 olmak üzere bu çalışmaya göre daha düşük direnç oranları saptanmıştır (164). Yine çalışma verilerine göre düşük direnç profili gösteren çalışmalara bakıldığında Romanya' da çocuk hastaların idrar, gaita ve boğaz kültürlerinde tespit edilen *E. coli* suşlarında piperasilin/tazobaktama % 18,7, seftriaksona % 14,3, seftazidime % 12,5, siprofloksasine % 8.9 ve meropeneme % 2,7 oranında direnç tespit edilmiştir (165). Nikaragua' lı 727 çocuğun gaitasının incelendiği bir çalışmada izole edilen *E. coli* suşunda timetoprim/sülfamatoksazol direnci % 46,6, siprofloksasin direnci % 1,9, seftazidim direnci % 1,7 ve amoksisilin/klavulonat direnci % 1,6 olarak tespit edilirken imipeneme dirençli suş bulunamamıştır (166). Portekiz' de çocukların gaitasından elde edilen 92 adet *E. coli* suşunun incelendiği bir çalışmada amoksisilin/klavulonat direnci % 14,1, siprofloksasin direnci % 2,1, trimetoprim/sülfamatoksazol direnci % 15,2 olarak tespit edilirken, seftazidim ve imipeneme dirençli suş bulunamamıştır (167). Erişkin hastaların antibiyotik maruziyeti çocuk hastalara nazaran fazladır. Bu çalışmanın popülasyonunun da erişkin hastalardan oluşması bahsi geçen çalışmalara kıyasla daha yüksek direnç profili ile karşılaşılmasının sebebi olabilir. Öte yandan coğrafi konum, temiz içme suyu, bölgenin sosyo ekonomik düzeyi antibiyotik direncinin oluşmasında etkili faktörlerdendir (168). Rize ilinde Şahin ve ark. (163)'

nın yaptığı çalışma ile bu çalışmadaki antibiyotik direnç oranlarının benzer olması, hastaların benzer çevre faktörlerine maruz kalması ile açıklanabilir. Çalışmalardan çıkarılan bir diğer sonuç trimetoprim/sülfamatoksazol direncinin, diğer antimikrobiyal ajanlara göre, pek çok çalışmaya benzer olarak bu çalışmada da yüksek saptanmasıdır. Özellikle her yaş grubunda oral formda ve sık şekilde kullanılabilen bu antibiyotiğe direnç oranlarının bu denli yüksek olması, antibiyotik baskısı altında direncin daha çok arttığını kanıtlar niteliktedir.

Geniş spektrumlu beta laktamazların dünya genelinde önemli bir sorun teşkil ettiği, bu konuda çok sayıda çalışmanın yapıldığı bilinmektedir. Tanzanya' da 100 çocuğun yer aldığı bir kohort çalışmasında çocukların doğumdan itibaren belirli aralıklarla alınan gaita örneklerinden *E. coli* suşları izole edilip antibiyotik direnç oranları belirlenmiştir. Buna göre GSBL üreten suşların oranı % 1,8 olarak hesaplanmıştır (169). Çalışmanın pediatrik yaş grubundan yapılması ve tekrarlı örneklerin kullanılması bu çalışmaya kıyasla daha düşük direnç profili görülmesinin sebebi olabilir. Öte yandan bu çalışmanın verilerine paralellik gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin; Portekiz' de 118 sağlıklı çocuktan alınan gaita örnekleri incelenmiş ve 92' sinde (% 78) *E. coli* izole edilmiştir. Bu suşların çift disk difüzyon testi (amoksisilin/klavulonat ve seftazidim) ile yapılan incelemesinde 33 suşun (% 35,8) GSBL ürettiği gösterilmiştir (167). Singapur' da sağlıklı bireylerin gaita mikrobiyotası üzerine yapılan bir çalışmada 109 adet dışkı örneği incelenmiş ve GSBL üreten *Enterobacterales* oranı % 25,7 (28/109) tespit edilmiştir (170). Hindistan' da 3. Basamak bir hastanede yapılan çalışmada çeşitli klinik örneklerden (abse, idrar, kan vb.) 181 adet *E. coli* suşu izole edilmiş ve GSBL direnç oranı % 28,7 (52/181) olarak belirlenmiştir (171).

Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında gaita örneklerinden izole edilen mikroorganizmalara ait az sayıda çalışma yer almaktadır. Ünver ve ark. (12)' nın İstanbul ilinde yaptığı bir çalışmada 250 adet dışkı örneği incelenmiş ve izole edilen *Enterobacterales* suşlarında çift disk sinerji testi ile GSBL direnci bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *E. coli* için GSBL direnç oranı % 11,6 olarak hesaplanmıştır. Yine İstanbul ilinde yapılan benzer bir çalışmada bu oran %18 olarak bulunmuştur (9). Ülkemizde uygulanan sağlık politikaları benzer olsa da bölgesel faktörler bu politikaların etkinliğini etkileyebilmektedir. Özellikle temiz su kaynaklarına ulaşımın

sınırlı olduğu veya çevresel kontaminasyonun yaygın olduğu bölgelerde antimikrobiyal direnç oranları daha yüksek olabilmektedir (163). Bu çalışmada tespit edilen GSBL oranlarının bahsi geçen çalışmalardan daha yüksek saptanması bu etkenlere bağlı olabilir.

Beta laktamazlar genelde bakterinin plazmiti üzerinde kodlanan TEM, SHV, CTX-M ve OXA gibi genlerden kaynaklanmaktadır (172). Bu enzimlerin etki mekanizmaları birbirine benzemektedir. İlk olarak TEM 1 geni izole edilmiş sonrasında kısa sürede yayılım göstererek farklı bakteri sınıflarında da etkili olmuştur. Geniş spektrumlu beta laktamazlardan TEM ve SHV 1980' li yılların başına kadar beta laktam grubu antibiyotik direncinden sorumlu tutulmuşlardır (173).

SHV 1 bakteri içinde plazmid üzerinde bulunabilir. Sahip olduğu –SH (sülfidril) grubu sebebi ile reaktif bir enzim olup ismini de buradan almaktadır (135). Zamanla çeşitli sefalosporin grubu antibiyotiklerde dirence yol açan SHV 2 gibi farklı enzimler keşfedilmiştir (174). Daha sonra kullanılan her beta laktam antibiyotiğe karşı bakterilerce oluşturulan bir direnç mekanizması geliştirilmiştir (85).

Genişlemiş spektrumlu enzim üretimine sebep olan diğer bir grup CTX-M ve OXA' dır. TEM ve SHV' ye göre nispeten daha az tür çeşidine sahiptirler. Bu grupta yer alan enzimler penisilin, sefalosporin ve monobaktam gibi pek çok antibiyotiği inaktive edebilmektedir. CTX-M, *E. coli*' de sıkça rastlanan bir enzim olup plazmid aracılı bir GSBL grubunu temsil eder. Hızlı mutasyona uğraması sebebi ile son yıllarda farklı türleri keşfedilmiştir (175).

Beta laktamaz genleri ile alakalı olarak Özgümüş ve ark. (10)' nın sağlıklı 21 kişinin gaitasından izole ettikleri 10 adet $Amp^r$ *E. coli* suşunda % 20 oranında TEM geni tespit edilmiş olup, SHV genlerine rastlanmamıştır. Bu çalışmadaki tüm suşlar incelendiğinde $bla_{TEM}$, $bla_{SHV}$ ve $bla_{CTX\text{-}M}$ için direnç oranları sırası ile % 60, % 1,5 ve % 24,6 saptanmıştır. Bahsedilen çalışmadaki izolat sayısının bu çalışmaya göre nispeten düşük olması bu farklılığın sebebi olabilir. Plazmidler üzerinde kodlanan bu genler, yatay gen transferi ile diğer bakterilere aktarılabildiği için antibiyotik direncinin yayılmasında kritik bir rol oynamaktadır (99). Aynı zamanda bu genlerin bazı türleri GSBL üretimine sebep olabilmektedir (139). Bu çalışmada elde edilen

verilere göre GSBL üreten suşlarda TEM geni % 47,3, CTX-M geni % 84,2 oranında bulunmuştur.

TEM geni ile ilgili olarak Küçükbasmacı (9)' nın ve Ünver & Küçükbasmacı (12)' nın çalışmalarında sırasıyla % 68,7 ve % 89,4 gibi bu çalışmaya kıyasla yüksek oranlar bulmuşken, Taşlı & Bahar (176) ve Jimeenz-Rojas ve ark. (177)' nın yaptığı çalışmalarda benzer oranlar (sırasıyla %52,7 ve %50) tespit edilmiştir. Direnç genlerinin yayılımını etkileyen pek çok faktör yer almaktadır. Genin adaptasyon yeteneği ve ülkelerin uyguladığı farklı sağlık politikaları bu çeşitliliğe sebep olabilir.

CTX-M ile geni ilgili 2017 yılında yapılan bir çalışmada özellikle CTX-M 14 ve CTX-M 15' in adaptasyon yeteneğinin yüksek olması ve yatay gen transferi ile hızla yayılım göstermesi sonucu küresel çapta diğer genotiplere baskınlık kurduğu saptanmıştır. İnsan göçü, gıda hayvanlarındaki antibiyotik kullanımı ve yetersiz sanitasyon gibi insan kaynaklı sorunlar bu yayılımı arttıran etmenler olarak belirtilmiştir (147). Bu çalışmada GSBL üreten suşların CTX-M geni sıklığı, pek çok çalışmaya benzer oranda tespit edilmiştir (9, 12, 170, 177). Aynı zamanda çalışmada CTX-M gen sıklığı diğer direnç genlerine oranla daha yüksek saptanmıştır. Bu durum Bevan ve ark. (147)' nın çalışmasında belirtildiği gibi hızlı yayılım gösterdiğini kanıtlar niteliktedir.

Çalışmada GSBL pozitif suşlarda SHV genine rastlanmamışken, SHV geni için diğer direnç genlerine kıyasla daha düşük oranlar rapor edilmiştir (9, 12, 170, 177). Liakopoulos ve ark. (178)' nın SHV geni ile ilgili bir derlemede bu genlerinin sınırlı sayıda mutasyon geçirmelerine, genleri taşıyan plazmidlerin mobilizasyon kısıtlılığına veya antibiyotiklere olan sınırlı etkisinden dolayı eliminasyona uğramasına bağlı olabileceği bahsedilmektedir.

İntegronlar, taşıdıkları gen kasetleri ile antibiyotik direncinin oluşmasına katkı sağlayan, aynı zamanda plazmit ve transpozon gibi hareketli yapılar sayesinde yatay gen transferinde rol oynayan genetik elemanlardır (179). İntegronların *Enterobacterales* ailesinde çoklu ilaç direnci ile ilişkili oldukları, özellikle sınıf 1 ve sınıf 2 integronların Gram negatif bakteriler arasında yaygın olarak bulundukları ve farklı gen kasetlerini ekleme, çıkarma ve yer değiştirme yetenekleri ile antimikrobiyal direncin yayılmasında rol oynadıkları bilinmektedir (180-182).

Çalışmada *intI1* geni suşların % 56,9' unda, *intI2* geni % 1,5' inde tespit edilmiştir. Değişken bölge analizlerinde 34 (% 52,3) suşun yaklaşık 600-1700 bp aralığında büyüklüğe sahip sınıf 1 integronlara, 1 (% 1,5) suşun ise yaklaşık 2500 bp büyüklüğünde sınıf 2 integrona sahip olduğu saptanmıştır.

Gillings ve ark. (183)' nın 2014 yılında integronlar ile ilgili yaptığı kapsamlı bir değerlendirmede henüz antibiyotiğe maruz kalmamış yenidoğanlar da dahil olmak üzere sağlıklı insanlardaki kommensal bakterilerde sınıf 1 integron oranlarının % 10 ila 50 arasında olabildiği belirtilmiştir. İran' ın Alborz eyaletinde insan ve hayvanların dışkı örneklerinden izole edilen toplam 200 adet *E. coli* suşu incelenmiş olup insanlarda sınıf 1 integron sıklığı % 38, sınıf 2 integron sıklığı % 8 olarak tespit edilmiştir (184). Bir başka çalışmada insan ve hayvan dışkıları ile kontamine olan çeşitli su örneklerinin incelenmesi ile izole edilen çoklu ilaç dirençli 9 adet *E.coli* suşunda % 22,2 (2/9) oranında sınıf 1 integron saptanmıştır (185).

İntegronlar ile ilgili yapılan diğer çalışmalara bakıldığında Moura ve ark. (186)' nın Berlenga adası' nda yaptığı bir çalışmada martı dışkıları ve atık sulardan toplanan 414 adet *E. coli* suşu incelenmiş olup integron sıklığına bakılmıştır. Elde edilen verilere göre atık sularda % 10 oranında sınıf 1 integron tespit edilmişken sınıf 2 integrona rastlanmamıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında çeşitli klinik örneklerde enfeksiyon etkeni olarak saptanan *E. coli* suşlarındaki sınıf 1 integron oranı % 28,8 olarak bulunmuştur (187). Çiçek ve ark. (161)' nın yaptığı bir çalışmada poliklinik hastalarının çeşitli klinik örneklerinden elde edilen *E. coli* suşları incelenmiş sınıf 1 ve sınıf 2 integron oranları sırası ile % 26,1 ve % 4,1 olarak bulunmuştur. Özgümüş ve ark. (188)' nın Türkiye' nin kuzeyindeki 10 farklı nehirden izole ettikleri Gram negatif bakterilerde yaptıkları çalışmada sınıf 1 integron oranı % 7,6 iken sınıf 2 integron oranı % 2,7 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada sınıf 1 integron içeren suş sayısının bahsi geçen çalışmalardan yüksek bulunmasının sebebi çalışmanın ampisiline dirençli bir grupta yapılması olabilir.

Klinik örneklere bakıldığında sınıf 1 integron oranları Çiçek ve ark. (161)' nın yaptığı çalışmada % 26,1, Sandalli ve ark. (187)' nın yaptığı çalışmada % 28,8 olarak

saptanmıştır. Bu çalışmadaki sınıf 1 integron oranı (% 56,9) bahsi geçen çalışmalara göre yüksektir.

Sınıf 1 integronlar *Tn21* transpozonlarında saptanmıştır (189). 3' korunmuş bölgesinde yer alan *sul* geni nedeniyle sülfonamid grubu antibiyotiklere dirence sebep olabilmektedir (121). Sınıf 2 integronlar ise *Tn7* transpozonu üzerindedir ve genelde dihidrofolat redüktaz (*dfr*) gen kasetlerini içermekle birlikte sırasıyla *dfrA1*, *sat2* ve *aadA1* gibi trimetoprim, streptomisin ve streptomisin/spektinomisine dirence sebep olabilen 3 gen kaseti taşırlar (190).

Trimetoprim/sülfametoksazol direncinin sebebi sınıf 1 integronlarda bulunan *sul* geni kaynaklı olabilir. Aynı zamanda sınıf 1 ve sınıf 2 integronların trimetoprim (*dfr*) direncinden sorumlu gen bölgeleri içerdikleri bilinmektedir. Kargar ve ark. (119)' nın dışkı örnekleri ile yaptığı bir çalışmada sınıf 1 integron ile trimetoprim/sülfametoksazol gen kasetleri arasında korelasyon olduğunu tespit etseler de (p=0,032) sayısal veri vermemişlerdir. Murshed ve ark. (191)' nın yaptığı bir çalışmada *E. coli* suşlarının %75' inde trimetoprim/sülfametoksazol direnci tespit edilirken % 67 oranında da *intI1* geni bulunmuştur. Ancak *intI1* geni içeren suşların antibiyotik direnci ayrıca belirtilmemiştir. Bahsi geçen çalışmalarda spesifik veri olmasa da yüksek oranda saptanan trimetoprim/sülfametoksazol direncinin sorumlusu olarak integronlar gösterilmiştir. Mevcut çalışmada *intI1* geni içeren suşların trimetoprim/sülfametoksazole direnç oranı yukarıda bahsedilen çalışmalarla paralellik göstermektedir. Ek olarak mevcut çalışmada integron içeren suşların antibiyotik direnç oranları integron içermeyen suşlar ile karşılaştırıldığında her bir ntibiyotiğe karşı direnç frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu durumun sebebi analiz yapılan veri sayısının az olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmada, integron içeren suşlarda *aadA1, lnuF, dfrA7, dfrA17* ve $bla_{\text{OXA-1}}$ gibi çeşitli gen kasetlerinin varlığı belirlenmiştir. Fransa' da sağlıklı insanlardan izole edilen 181 adet *E. coli* suşu ile yapılan bir çalışmada, sınıf 1 ve 2 integrona sahip 27 suş tespit edilip içerdikleri gen kasetleri incelenmiştir ve *aadA, dfr, orfF* olmak üzere çeşitli gen kaset grupları belirlenmiştir (192).

İspanya' da 2008 yılında yapılan bir çalışmada, sağlıklı bireylerden izole edilen 100 adet *E. coli* suşunun 29' unda sınıf 1 ve 2 integron varlığı saptanmış ve bu

integronların içerdikleri gen kasetleri analiz edilmiştir. Bu çalışmada, sınıf 1 integronlarda *dfrA1 + aadA1, aadA, dfrA17 + aadA5, dfrA7, dfrA5, dfrA1* ve *dfrA12 + orfF + aadA2* olmak üzere 7 farklı gen kaset *array*'ı belirlenmiştir (193).

Çiçek ve ark. (161)' nın yaptığı bir çalışmada, hastane kaynaklı izolatlarda yaygın olarak *dfrA1, dfrA5, dfrA7, dfrA17, aadA1, aadA5* ve *sat2* gibi gen kasetleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen *dfrA7* ve *dfrA17* gen kasetleri, bahsi geçen çalışmaların bulgularıyla benzer olarak trimetoprim direncinden sorumlu *dfrA* genlerinin varlığını göstermektedir.

Mengeloğlu ve ark. (194)' nın *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında integron varlığını araştırdıkları bir çalışmada, bu izolatların (*aacC1-aadA1 ve aac(3)-1*) ve (*bla*$_{\text{OXA-30}}$*-aadA1* ve *bla*$_{\text{OXA-11}}$*-cmlA7*) olarak adlandırılan farklı gen kasetlerini içerdiği belirlenmiştir. Çalışmadaki *bla*$_{\text{OXA-11}}$ ve *bla*$_{\text{OXA-30}}$ gen kasetleri izolatlardaki beta laktam direncinden sorumludur. Bu çalışmada tespit edilen *bla*$_{\text{OXA-1}}$ gen kaseti de beta laktam antibiyotiklere karşı direnç mekanizmalarının çeşitliliğini göstermektedir.

Ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında yaygın olarak sınıf 1 integron varlığı saptanmış ve integron sekans analizi sonucu *aadA1, aac(3)-Id-orf-aac(3'')-Ia, aac(3)-Ie-bla*$_{\text{oxa10}}$*-aadA1, aadA6, aac(6')-I-orf-aadA2* gibi farklı gen kasetleri bulunmuştur. Bu çalışmada da benzer olarak, aminoglikozid grubu antibiyotiklere dirençten sorumlu *aadA1* gen kaseti belirlenmiştir (195). Farklı mikroorganizmalarda bulunan benzer gen kasetleri, yatay gen transferinin farklı bakteri türleri arasında da olabileceğini düşündürmektedir.

Özgümüş ve ark. (196)' nın *Pseudomonas aeuroginosa* suşları ile yaptıkları bir çalışmada, mevcut çalışmaya benzer olarak *dfr1-aadA1* ve *dhfrA17-aadA5* gibi gen kasetleri tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacıların su kaynaklarından izole ettikleri *Enterobacterales* suşları ile yaptığı bir çalışmada, mevcut çalışmaya benzer şekilde *dfrA1, dfrA7, dfrA17, aadA1, aadA5* gen kasetlerinin yanı sıra *dfrA16, dfr2d* ve *bla*$_{\text{OXA-30}}$, *sat1* gibi farklı gen kasetleri de tespit etmişlerdir. Ayrıca, bu çalışmada *Citrobacter koseri* suşunda ilk kez *dfrA16* gen kaseti gösterilmiştir (188). Çevre su kaynakları çoklu ilaç dirençli *Enterobacterales* suşları için rezervuar görevi görebildiği

düşünülebilir. Bu suşların içerdiği gen kasetlerinin yatay gen transferi ile insan patojenlerine aktarılabilmesi, toplum sağlığını tehdit eden ciddi bir sorun oluşturabilir.

Kalifornia' da bir üniversitenin kampüsündeki sağlıklı bireylerin gaita kültürlerinden izole edilen Gram negatif bakteriler incelendiğinde özellikle trimetoprim/sülfametoksazol ve gentamisin direncine sahip suşlarda integronlar tespit edilmiş ve mevcut çalışmaya benzer olarak *dfr* (sıklıkla *dfrA12* ve *dfrA17*), *aad* (sıklıkla *aadA5* ve *aadA1*) gibi gen kasetleri içerdiği gözlenmiştir (11).

Sonuç olarak, üç ay gibi bir süre antibiyotik baskısına maruz kalmamış insanların dışkısından izole edilen *E. coli* gibi indikatör bir bakteride tespit edilen beta-laktamaz ve integron aracılı *aadA1, lnuF, dfrA7, dfrA17* ve $bla_{\text{OXA-1}}$ gibi gen kasetleri, diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, antibiyotik direnç genlerinin potansiyel olarak çeşitli ve yaygın olarak popülasyonda bulunabildiğini ortaya koymaktadır. Bu direnç genlerinin, akraba ve yakın bakteriyel türler arasında yayılma potansiyelini yatay gen transfer mekanizmalarının artıracağı düşünülmektedir. Bunun için sadece klinik arenada değil, mikrobiyota ve çevre orijinli diğer bakterilerde de direncin moleküler epidemiyolojisinin ve takibinin ulusal ve uluslararası zeminde "Tek Sağlık" kapsamında takibinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

# 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Rize Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Mart-Mayıs 2023 tarihleri arasında insan dışkısından izole edilen Amp$^r$ *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve direnç genleri analiz edilmiştir. Çalışmada elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir:

Çalışmada çoklu ilaç direnci (3 farklı grup antibiyotiğe dirençli) gözlenen 33 suş (%50,7) tespit edilirken, aminoglikozid grubu antibiyotiklere %1,5 oranında direnç görülmüştür. Karbapenem grubu antibiyotiklere ise direnç saptanmamıştır.

Çalışmaya dahil edilen 65 Amp$^r$ *E. coli* suşunun % 60' ında TEM, % 24,6' sında CTX-M ve % 1,5' inde SHV geni saptanmıştır. Ayrıca, suşların % 56,9' unda sınıf 1 integron, % 1,5' inde ise sınıf 2 integron tespit edilmiştir.

İzolatların antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 13 farklı antibiyotiğe karşı direnç profilleri belirlenmiştir. Özellikle GSBL üreten suşların oranının (% 29,2) yüksek olduğu gözlenmiştir.

GSBL üretiminden sorumlu olan TEM, CTX-M ve SHV genlerinin yanı sıra, integronlar ve bu integronlar içerisinde yer alan gen kasetleri (*aadA1, dfrA7, dfrA17,* $bla_{\text{OXA-1}}$*, lnuF* gibi) belirlenmiştir. Bu bulgular, suşların yüksek oranda hareketli genetik elemanlar aracılığıyla direnç genlerini yayma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Bu sonuçlar, insan sağlığı açısından önemli riskler taşıyan amp$^r$ *E. coli* suşlarının, yalnızca antibiyotik tedavilerinde sorun yaratmakla kalmayıp, aynı zamanda direnç genlerini yayma potansiyeli nedeniyle toplum sağlığı için ciddi tehdit oluşturduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, antibiyotik direncinin kontrol altına alınması ve yayılımının önlenmesi büyük önem taşımaktadır.

**Öneriler**

1. Antibiyotik kullanımının kontrolü: Antibiyotiklerin uygun ve rasyonel kullanımı, antibiyotik direncinin yayılmasını önlemek için temel strateji olmalıdır.

2. Sürveyans: Antimikrobiyal direnç ile ilgili sürekli izleme ve sürveyans programları oluşturulmalı ve bu programlar aracılığıyla elde edilen veriler düzenli olarak analiz edilmelidir. Bu sayede, direnç profilleri ve yayılımı hakkında güncel bilgiler sağlanabilir.
3. Tek Sağlık yaklaşımı: Antibiyotik direncinin yalnızca insan sağlığı değil, aynı zamanda hayvan sağlığı ve çevre sağlığı ile de ilişkili olduğu unutulmamalıdır. Bu nedenle, "Tek Sağlık" yaklaşımı benimsenmeli ve multidisipliner çalışmalar teşvik edilmelidir.
4. Eğitim ve farkındalık: Sağlık çalışanları, veterinerler ve toplum genelinde antibiyotik direnci konusunda eğitim ve farkındalık artırıcı programlar düzenlenmelidir. Bu sayede, antibiyotiklerin doğru kullanımı ve direnç gelişiminin önlenmesi sağlanabilir.
5. Araştırma ve geliştirme: Antibiyotik direncine karşı yeni tedavi yöntemleri geliştirilmelidir. Ayrıca, mevcut antibiyotiklerin etkinliğini artırmak için kombine tedavi yöntemleri üzerine araştırmalar yapılmalıdır.
6. Enfeksiyon kontrol önlemleri: Hastane ve sağlık kuruluşlarında enfeksiyon kontrol önlemleri sıkı bir şekilde uygulanmalı ve hijyen protokollerine uyulmalıdır. Bu durum, dirençli bakterilerin yayılmasını önlemede etkili olacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışma insan dışkısı kaynaklı $Amp^r$ *E. coli* suşlarının moleküler düzeydeki direnç mekanizmalarını ve antibiyotik duyarlılıklarını analiz ederek, antimikrobiyal direnç ile mücadelede önemli veriler sağlamaktadır. Bu verilerin, halk sağlığı politikalarının belirlenmesinde ve antibiyotik direncinin kontrol altına alınmasında önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

# 7. KAYNAKLAR


1. Bertagnolio S, Suthar AB, Tosas O, Van Weezenbeek K. Antimicrobial resistance: Strengthening surveillance for public health action. PLoS Medicine. 2023;20(7):e1004265.
2. Radovanovic M, Kekic D, Gajic I, Kabic J, Jovicevic M, Kekic N, et al. Potential influence of antimicrobial resistance gene content in probiotic bacteria on the gut resistome ecosystems. Frontiers in Nutrition. 2023;10:1054555.
3. Moradigaravand D, Palm M, Farewell A, Mustonen V, Warringer J, Parts L. Prediction of antibiotic resistance in Escherichia coli from large-scale pan-genome data. PLoS Computational Biology. 2018;14(12):e1006258.
4. Rozwadowski M, Gawel D. Molecular factors and mechanisms driving multidrug resistance in uropathogenic Escherichia coli. Genes. 2022;13(8):1397.
5. Khan I, Bai Y, Zha L, Ullah N, Ullah H, Shah SRH, et al. Mechanism of the gut microbiota colonization resistance and enteric pathogen infection. Frontiers in Cellular Infection Microbiology. 2021;11:716299.
6. Krishnamurthy HK, Pereira M, Bosco J, George J, Jayaraman V, Krishna K, et al. Gut commensals and their metabolites in health and disease. Frontiers in Microbiology. 2023;14:1244293.
7. Karukappadath RM, Sirbu D, Zaky A. Drug-resistant bacteria in the critically ill: patterns and mechanisms of resistance and potential remedies. Frontiers in Antibiotics. 2023;2:1145190.
8. Kızmaz YU. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üreten Escherichia coli (E.coli) Suşlarının Etken Olduğu Üriner Sistem İnfeksiyonlarında Dışkıda GSBL Üreten E.coli Taşıyılığının Saptanması [Tıpta Uzmanlık Tezi]: Kocaeli Üniversitesi; 2014.
9. Küçükbasmacı Ö. Dışkıda Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten Enterobacterıaceae Üyelerinin Prevalansının Araştırılması Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2009;39(3-4):85-8.
10. Özgümüş OB, Tosun İ, Aydin F, Kiliç AO, Ertürk M. Carriage of Mobilizable Plasmid-Mediated\beta-Lactamase Gene in Ampicillin-Resistant Escherichia

coli Strains with Origin of Normal Fecal Flora. Turkish Journal of Medical Sciences. 2006;36(5):307-14.

11. Rubin J, Mussio K, Xu Y, Suh J, Riley LW. Prevalence of antimicrobial resistance genes and integrons in commensal Gram-negative bacteria in a college community. Microbial Drug Resistance. 2020;26(10):1227-35.
12. Ünver D, Küçükbasmacı Ö. Salgın dışı durumlarda dışkıda genişlemiş spektrumlu Beta-Laktamaz üreten enterobacteriaceae üyelerinin prevalansının saptanması. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2008;38(3-4):126-31.
13. El Aila NA, Laham NAA, Ayesh BM, Naas T. Fecal carriage of extended-spectrum β-lactamase-producing enterobacterales from hospitals and community settings in Gaza Strip, Palestine. BMC Microbiology. 2023;23(1):376.
14. Kettani Halabi M, Lahlou FA, Diawara I, El Adouzi Y, Marnaoui R, Benmessaoud R, et al. Antibiotic resistance pattern of extended spectrum beta lactamase producing Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection in Morocco. Frontiers in Cellular Infection Microbiology. 2021;11:720701.
15. Ghenea AE, Zlatian OM, Cristea OM, Ungureanu A, Mititelu RR, Balasoiu AT, et al. TEM, CTX-M, SHV genes in ESBL-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from clinical samples in a county clinical emergency hospital Romania-predominance of CTX-M-15. Antibiotics. 2022;11(4):503.
16. Sun D, Sun X, Hu Y, Yamaichi Y. Horizontal gene transfer mediated bacterial antibiotic resistance, volume II. Frontiers in Microbiology. 2023;14:1221606.
17. C.D.C. One Health Basics: CDC; Jul 2021 [Available from: https://www.cdc.gov/onehealth/basics/index.html.
18. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. American Society for Microbiology. 2018/03/31 ed2018 Mar.
19. Aslan FG, Altındiş M. İnsan mikrobiyom projesi, mikrobiyotanın geleceği ve kişiye özel tıp uygulamaları. 2017;1:1-6.
20. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. PLoS Biology. 2016;14(8):e1002533.

21. Demirci H. Fekal Mikrobiyota Transplantasyonu. Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi. 2019;2(4):127-9.
22. Yılmaz K, Altındiş M. Sindirim sistemi mikrobiyotasi ve fekal transplantasyon. Nobel Medicus. 2017;13(1):9-15.
23. Karatay E. Mikrobiyota, prebiyotik ve probiyotikler. Anadolu Güncel Tıp Dergisi. 2019;1(3):68-71.
24. Koçak T, Şanlıer N. Mikrobesin öğeleri ve mikrobiyota etkileşimi. Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2017;6(4):290-302.
25. Quaglio AEV, Grillo TG, De Oliveira ECS, Di Stasi LC, Sassaki LY. Gut microbiota, inflammatory bowel disease and colorectal cancer. World Journal of Gastroenterology. 2022;28(30):4053.
26. Çaycı YT, Bıyık İ, Çınar C, Birinci A. Karbapeneme dirençli Enterobacteriaceae izolatlarının 2015-2018 yılları arasındaki antibiyotik direnci. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2020;50(3):134-40.
27. Avcıoğlu F, Behçet M. Üriner sistem enfeksiyonu etkeni Escherichia coli izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2020;50(3):172-7.
28. Blount Z. The Natural History of Model Organisms: The unexhausted potential of E. coli. eLife. 2015;4.
29. Shulman ST, Friedmann HC, Sims RH. Theodor Escherich: The First Pediatric Infectious Diseases Physician? Clinical Infectious Diseases. 2007;45(8):1025-9.
30. Unat EK. Tıp bakteriyolojisi ve virolojisi. 1. 2 ed: Dergah Tıp Yayınları; 1986. p. 546.
31. Bettelheim KA, Breadon A, Faiers MC, O'Farrell SM, Shooter R. The origin of O serotypes of Escherichia coli in babies after normal delivery. Epidemiology & Infection. 1974;72(1):67-70.
32. Daegelen P, Studier FW, Lenski RE, Cure S, Kim JF. Tracing ancestors and relatives of Escherichia coli B, and the derivation of B strains REL606 and BL21 (DE3). Journal of Molecular Biology. 2009;394(4):634-43.
33. Zimmer C. Microcosm: E. coli and the New Science of Life. Vintage; 2008.

34. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. Enterobacteriaceae. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9 ed1994. p. 362-87.
35. Bilgehan H. Enterobacteriaceae. Klinik Mkrobiyolojik Tanı. Ankara: Fakülteler Kitapevi; 1992. p. 387-411.
36. Orlek A, Stoesser N, Anjum MF, Doumith M, Ellington MJ, Peto T, et al. Plasmid classification in an era of whole-genome sequencing: application in studies of antibiotic resistance epidemiology. Frontiers in Microbiology. 2017;8:182.
37. Ryan KJ, Ray CG. Enterobacteriaceae. Sherris medical Microbiology (an Introduction to Infectious Diseases). 4 ed. Montreal: Prentice-Hall International; 1994. p. 323-29.
38. Gürkan U. Escherichia coli Enfeksiyonları. Turkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics 2015;1(3):22-9.
39. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Medical Microbiology 7ed. Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd. Şti; 2016. p. 258-64.
40. Söyletir G, Topçu A, Doğanay M. Akut Bakteriyal İshaller. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 1996. p. 9-608.
41. Bilgehan H. Enterobacteriaceae Familyası. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları Kitabı. 2000. p. 1-103.
42. Echeverria P, Sethabutr O, Pitarangsi C. Microbiology and diagnosis of infections with Shigella and enteroinvasive Escherichia coli. Reviews of Infectious Diseases. 1991;13(Supplement_4):S220-S5.
43. Vial PA, Robins-Browne R, Lior H, Prado V, Kaper JB, Nataro JP, et al. Characterization of enteroadherent-aggregative Escherichia coli, a putative agent of diarrheal disease. Journal of Infectious Diseases. 1988;158(1):70-9.
44. Bilgehan H. Bağışık yanıt ve temelleri. Temel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi kitabı. 10 ed. İzmir: Barış Yayınları; 2002. p. 303-17.
45. Erayman İ, Erayman B, Türkarıbaş E. İdrar örneklerinden izole edilen Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2001;15(2):164.
46. Topal M, Şenel GU, Topal EIA, Erdal Ö. Antibiyotikler ve kullanım alanları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi. 2015;31(3):121-7.

47. Khan F. Antibiotics classification and visual target sites for bacterial inhibition. Advances in Pharmacology and Clinical Trials. 2018;3(3):1-3.
48. Etebu E, Arikekpar I. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. Int J Appl Microbiol Biotechnol Res. 2016;4(2016):90-101.
49. Mülazımoğlu L. Kolistimetat Sodyum ve Kolistin Farmakokinetiği-Farmakodinamisi. ANKEM Derg. 2012;26(Ek-2):19-21.
50. Simon C, Stille KW. Hastanede ve Muayene Hekimliğinde Antibiyotik Tedavisi. Frankfurt: Nobel Tıp Kitapevi; 2008.
51. Ermertcan Ş, Yılmaz FF, Taşlı H, Yurtman A. Aminoglikozit Dirençli Gram Negatif Bakterilerde Plazmid Aracılı Metilaz Genlerinin Araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2013;43(1):12-6.
52. Aynali G. Aminoglikozit ototoksisitesini önleme. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 2009;16(2):39-44.
53. Güreli H. Sığırlarda solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi. 2009;80(3):29-33.
54. Bayındır Y. 1986'dan 2010'a Makrolidler. ANKEM Derg. 2010;24(Ek 2):19-26.
55. Vester B, Douthwaite S. Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 2001;45(1):1-12.
56. Yılmaz İ. Nöroprotektif tedavide yeni bir ilaçhedefi: İkinci jenerasyon tetrasiklinler Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi. 2007;14(1):47-52.
57. Acar M, Somer A, Salman N. Yeıii Antibiyotikler. Çocuk Dergisi. 2015;15.
58. Korten V. Linezolid. ANKEM Derg. 2004;18(Ek 2):178-80.
59. Jaktaji RP, Mohiti E. Study of mutations in the DNA gyrase gyrA gene of Escherichia coli. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR. 2010;9(1):43.
60. Günal E, Erdem H. Kinolonlar. İç Hastalıkları Dergisi. 2014;21:69-85.
61. Ulutan F. Yeni kinolonlar ve solunum sistemi infeksiyonlarında kullanımı. Flora Derg. 2003;8(1):32-9.

62. Yonar M, Sağlam N. Sülfonamidler ve balıklarda kullanımı. Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi. 2013;1(1):37-42.
63. Byrne-Bailey K, Gaze WH, Kay P, Boxall A, Hawkey P, Wellington E. Prevalence of sulfonamide resistance genes in bacterial isolates from manured agricultural soils and pig slurry in the United Kingdom. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2009;53(2):696-702.
64. Saran B, Karahan ZC. Antimikrobiyal ajanlara genel bakış. Turk Urol Sem. 2010;1:216-20.
65. Bergmann R, van der Linden M, Chhatwal GS, Nitsche-Schmitz DP. Factors that cause trimethoprim resistance in Streptococcus pyogenes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2014;58(4):2281-8.
66. Huovinen P. Trimethoprim resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1987;31(10):1451-6.
67. Öncül O. Vankomisin ve teikoplanin hikayesi. ANKEM Derg. 2010;24:101-9.
68. Palzkill T. Structural and mechanistic basis for extended-spectrum drug-resistance mutations in altering the specificity of TEM, CTX-M, and KPC β-lactamases. Frontiers in Molecular Biosciences. 2018;5:16.
69. Therrien C, Levesque RC. Molecular basis of antibiotic resistance and β-lactamase inhibition by mechanism-based inactivators: perspectives and future directions. FEMS Microbiology Reviews. 2000;24(3):251-62.
70. Percival KM. Antibiotic classification and indication review for the infusion nurse. Journal of Infusion Nursing. 2017;40(1):55-63.
71. Yocum RR, Rasmussen JR, Strominger JL. The mechanism of action of penicillin. Penicillin acylates the active site of Bacillus stearothermophilus D-alanine carboxypeptidase. J Biol Chem. 1980;255(9):3977-86.
72. Kurt H. Sefalosporinler. Güncel Gastroenteroloji Dergisi. 1997;1(2):197-202.
73. Gülay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller. ANKEM Derg. 2003;17(3):192-204.
74. Kumar S, Parvathi A, Hernandez RL, Cadle KM, Varela MF. Identification of a novel UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase (MurA) from Vibrio fischeri that confers high fosfomycin resistance in Escherichia coli. Archives of Microbiology. 2009;191(5):425-9.

75. Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. Clinical Infectious Diseases. 2008;46(7):1069-77.
76. Falagas ME, Kopterides P. Old antibiotics for infections in critically ill patients. Current Opinion in Critical Care. 2007;13(5):592-7.
77. Greenwood D, Finch R, Norrby S. Fosfomycin and fosmidomycin, pp: 294-6. In: Livingstone C, editor. Antibiotic and Chemotherapy 8. Toronto2003. p. 294-6.
78. Cesur S, Demiröz A. Antibiotics and the mechanisms of resistance to antibiotics. Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences. 2013;21:4:138-42.
79. Van TTH, Chin J, Chapman T, Tran LT, Coloe PJ. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of Escherichia coli isolations for antibiotic resistance and virulence genes. International journal of food microbiology. 2008;124(3):217-23.
80. Delmani F, Jaran AS, Tarazi YA, Masaadeh H, Zaki O, Irbid T. Characterization of ampicillin resistant gene (blaTEM-1) isolated from E. coli in Northern Jordan. Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences. 2017;7:11-5.
81. Chaudhary MK, Jadhav I, Banjara MR. Molecular detection of plasmid mediated blaTEM, blaCTX−M, and blaSHV genes in Extended Spectrum β-Lactamase (ESBL) Escherichia coli from clinical samples. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 2023;22(33).
82. El Aila NA, Al Laham NA, Ayesh BM. Prevalence of extended spectrum beta lactamase and molecular detection of blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genotypes among Gram negative bacilli isolates from pediatric patient population in Gaza strip. BMC Infectious Diseases. 2023;23(1):99.
83. Hrovat K, Molan K, Seme K, Ambrožič Avguštin J. Molecular characterization of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli isolated from lower respiratory tract samples between 2002 and 2019 in the Central Slovenia region. Annals of Clinical Microbiology Antimicrobials. 2024;23(1):6.

84. Zhou N, Cheng Z, Zhang X, Lv C, Guo C, Liu H, et al. Global antimicrobial resistance: a system-wide comprehensive investigation using the Global One Health Index. Infectious Diseases of Poverty. 2022;11(1):92.
85. Bal Ç. Beta-laktamazlar: Güncel durum. Flora Derg. 2003;8(2):111-23.
86. Kayiş U. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları. Aydın Sağlık Dergisi. 2019;5(1):1-12.
87. Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. Clinical Infectious Diseases. 2003;36(Supplement_1):S11-S23.
88. Kidane D, Ayora S, Sweasy JB, Graumann PL, Alonso JC. The cell pole: the site of cross talk between the DNA uptake and genetic recombination machinery. Critical Reviews in Biochemistry Molecular Biology. 2012;47(6):531-55.
89. Brüssow H, Canchaya C, Hardt W-D. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. Microbiology Molecular Biology Reviews. 2004;68(3):560-602.
90. Domingues S, Nielsen KM, da Silva GJ. Various pathways leading to the acquisition of antibiotic resistance by natural transformation. Mobile Genetic Elements. 2012;2(6):257-60.
91. Carattoli A. Importance of integrons in the diffusion of resistance. Veterinary Research. 2001;32(3-4):243-59.
92. Thomas CM, Nielsen KM. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. Nature Reviews Microbiology. 2005;3(9):711-21.
93. Dominguez W, O'Sullivan DJ. Developing an efficient and reproducible conjugation-based gene transfer system for bifidobacteria. Microbiology. 2013;159(Pt_2):328-38.
94. Anthony J. F. Griffiths, Gelbart WM, Miller JH, RC L. Modern Genetic Analysis. Freeman WH, editor. New York1999.
95. Smillie C, Garcillán-Barcia M, Francia M, Rocha E, De La Cruz F. Mobility of plasmids. Microbiol Mol Biol Rev.74: 434–452. 2010.
96. Harbottle H, Thakur S, Zhao S, White D. Genetics of antimicrobial resistance. Animal Biotechnology. 2006;17(2):111-24.

97. Balcazar JL. Bacteriophages as vehicles for antibiotic resistance genes in the environment. PLoS Pathogens. 2014;10(7):e1004219.
98. Feiner R, Argov T, Rabinovich L, Sigal N, Borovok I, Herskovits AA. A new perspective on lysogeny: prophages as active regulatory switches of bacteria. Nature Reviews Microbiology. 2015;13(10):641-50.
99. Domingues S, da Silva GJ, Nielsen KM. Integrons: vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. Mobile Genetic Elements. 2012;2(5):211-23.
100. Bennett PM. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. British journal of pharmacology. 2008;153(S1):S347-S57.
101. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance. Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens. 2016;4(2):481-511.
102. Von Wintersdorff CJ, Penders J, Mills ND, Majumder S, Wolffs PF. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. Frontiers in Microbiology. 2016;7(173).
103. Clewell DB. Antibiotic resistance plasmids in bacteria. Encyclopedia of Life Sciences. 2001.
104. Loyola Irizarry HG, Brito IL. Characterizing conjugative plasmids from an antibiotic-resistant dataset for use as broad-host delivery vectors. Frontiers in Microbiology. 2023;14:1199640.
105. Reis A. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Escherichia coli Suşlarında İntegron Gen Kasetlerinin Moleküler Karakterizasyonu [Doktora Tezi]: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2017.
106. Giedraitiene A, Vitkauskiene A, Naginiene R, Pavilonis A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. Medicina. 2011;47(3):19.
107. Dakic I, Lilakos D, Svabic-Vlahovic M, Christofilopoulou S, Poggas N, Charvalos E. Integron-associated antimicrobial resistance in isolates of members of Enterobacteriaceae causing community-acquired urinary infections. Microbial Ecology in Health Disease. 2007;19(3):201-6.

108. Ravi A, Avershina E, Ludvigsen J, L'Abée-Lund TM, Rudi K. Integrons in the intestinal microbiota as reservoirs for transmission of antibiotic resistance genes. Pathogens. 2014;3(2):238-48.
109. Deng Y, Bao X, Ji L, Chen L, Liu J, Miao J, et al. Resistance integrons: class 1, 2 and 3 integrons. Annals of Clinical Microbiology Antimicrobials. 2015;14:1-11.
110. Kumar G, Balakrishna K, Mukhopadhyay C, Kalwaje Eshwara V. Comparison of integron mediated antimicrobial resistance in clinical isolates of Escherichia coli from urinary and bacteremic sources. BMC Microbiology. 2024;24(1):102.
111. Neron B, Littner E, Haudiquet M, Perrin A, Cury J, Rocha EP. IntegronFinder 2.0: identification and analysis of integrons across bacteria, with a focus on antibiotic resistance in Klebsiella. Microorganisms. 2022;10(4):700.
112. Tennstedt T, Szczepanowski R, Braun S, Pühler A, Schlüter A. Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant. FEMS Microbiology Ecology. 2003;45(3):239-52.
113. Partridge SR, Tsafnat G, Coiera E, Iredell JR. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. FEMS Microbiology Reviews. 2009;33(4):757-84.
114. Abella J, Bielen A, Huang L, Delmont TO, Vujaklija D, Duran R, et al. Integron diversity in marine environments. Environmental Science Pollution Research. 2015;22:15360-9.
115. Kang HY, Jeong YS, Oh JY, Tae SH, Choi CH, Moon DC, et al. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in Escherichia coli isolates from humans and animals in Korea. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005;55(5):639-44.
116. Çolakoğlu F, Özgümüş OB, Sandallı C, Çelik-Sevim E, Alpay-Karaoğlu Ş. Deniz suyu kökenli koliformlarda sınıf 1 ve sınıf 2 integron gen kasetleri ve antibiyotik direncinin karakterizasyonu. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2010;40(2):97-108.

117. Liebert CA, Hall RM, Summers AO. Transposon Tn 21, flagship of the floating genome. Microbiology Molecular Biology Reviews. 1999;63(3):507-22.
118. Partridge SR, Brown HJ, Stokes H, Hall RM. Transposons Tn 1696 and Tn 21 and their integrons In4 and In2 have independent origins. Antimicrobial Agents Chemotherapy 2001;45(4):1263-70.
119. Kargar M, Mohammadalipour Z, Doosti A, Lorzadeh S, Japoni-Nejad A. High prevalence of class 1 to 3 integrons among multidrug-resistant diarrheagenic Escherichia coli in southwest of Iran. Osong Public Health Research Perspectives. 2014;5(4):193-8.
120. Guerra B, Junker E, Schroeter A, Malorny B, Lehmann S, Helmuth R. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German Escherichia coli isolates from cattle, swine and poultry. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003;52(3):489-92.
121. Laroche E, Pawlak B, Berthe T, Skurnik D, Petit F. Occurrence of antibiotic resistance and class 1, 2 and 3 integrons in Escherichia coli isolated from a densely populated estuary (Seine, France). FEMS Microbiology Ecology. 2009;68(1):118-30.
122. Hansson K, Sundström L, Pelletier A, Roy PH. IntI2 integron integrase in Tn 7. Journal of Bacteriology. 2002;184(6):1712-21.
123. Finn JA, Parks AR, Peters JE. Transposon Tn 7 directs transposition into the genome of filamentous bacteriophage M13 using the element-encoded TnsE protein. Journal of Bacteriology. 2007;189(24):9122-5.
124. Peters JE, Craig NL. Tn7: smarter than we thought. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2001;2(11):806-14.
125. Barlow RS, Gobius KS. Diverse class 2 integrons in bacteria from beef cattle sources. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006;58(6):1133-8.
126. Kaushik M, Kumar S, Kapoor RK, Virdi JS, Gulati P. Integrons in Enterobacteriaceae: diversity, distribution and epidemiology. International Journal of Antimicrobial Agents. 2018;51(2):167-76.
127. Mohammadalipour Z, Doosti A. High frequency of class 2 and 3 integrons related to drug-resistance in clinical isolates of diarrheagenic E. coli in Iran. Novelty in Biomedicine. 2017;5(1):30-6.

128. Abbasoğlu U. Antimikrobyal İlaçların Kullanımı. In: Abbasoğlu U, Çevikbaş A, editors. Farmasötik Mikrobiyoloji. Ankara: Efil Yayınevi; 2011.
129. Keyik Ş. Acinetobacter baumannii suşlarında OXA-23 ve OXA-58 tipi genişlemiş spektrumlu Beta laktamaz varlığının araştırılması ve PFGE yöntemi ile klonal yakınlığının incelenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Konya: Konya Selçuklu Üniversitesi; 2013.
130. Lambert PA. Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites. Advanced Drug Delivery Reviews. 2005;57(10):1471-85.
131. Pazarlı O, Cömert F, Külah C, Aktaş E, Köktürk F. Kinolon Dirençli Escherichia coli ve Klebsiella spp. izolatlarında direnç sağlayan gen mutasyonlarının ve direnç genlerinin araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 47(4):176-184; 2017.
132. Işik Y. Pseudomonas aeruginosa kökenlerinde kinolon direncinin moleküler olarak saptanması [Yüksek Lisans Tezi]: Gazi Üniversitesi 2013.
133. Coyne S, Courvalin P, Périchon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in Acinetobacter spp. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 2011;55(3):947-53.
134. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β-lactamases. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 2010;54(3):969-76.
135. Bradford PA. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clinical Microbiology Reviews. 2001;14(4):933-51.
136. Alkan H. Çocuk İdrar Örneklerinden Escherıchıa Colı İzolasyonu; Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Pozitif İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları, Direnç İle Virülens Genlerinin Analizi Ve Filogenetik Gruplarının Belirlenmesi [Doktora Tezi]: Kafkas Üniversitesi; 2021.
137. Yüce A. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. Klimik Dergisi. 2001;14(2):41-6.
138. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. Clinical Microbiology Reviews. 2005;18(4):657-86.
139. Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum β-lactamases. Clinical Microbiology Infection. 2008;14:42-52.

140. Görgeç S. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten nozokomiyal Escherichia coli izolatlarında beta-laktamaz genleri ve klonal ilişkinin araştırılması [Uzmanlık Tezi]: İnönü Üniversitesi; 2012.
141. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum β-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007;60(5):913-20.
142. Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 2008;52(8):2818-24.
143. Ghaddar N, Anastasiadis E, Halimeh R, Ghaddar A, Matar GM, Abou Fayad A, et al. Phenotypic and genotypic characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by Escherichia coli colonizing pregnant women. Infectious Diseases in Obstetrics Gynecology 2020;2020.
144. Jacoby GA. Extended-spectrum β-lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino-β-lactams. Infectious Disease Clinics of North America. 1997;11(4):875-87.
145. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. The New England Journal of Medicine. 2005;352(4):380-91.
146. Cantón R, González-Alba JM, Galán JC. CTX-M enzymes: origin and diffusion. Frontiers in Microbiology. 2012;3:110.
147. Bevan ER, Jones AM, Hawkey PM. Global epidemiology of CTX-M β-lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2017;72(8):2145-55.
148. Mendonça J, Guedes C, Silva C, Sá S, Oliveira M, Accioly G, et al. New CTX-M group conferring β-lactam resistance: A compendium of phylogenetic insights from biochemical, molecular, and structural biology. Biology. 2022;11(2):256.
149. WHO (World Health Organization). Global action plan on antimicrobial resistance. 2015.

150. Yolcu R. Typelish. Tek Sağlık (One Health) Yaklaşımı Nedir? 2022 [Available from: https://typelish.com/b/tek-saglik-one-health-yaklasimi-nedir-105886.
151. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. 2023. Version 13.0, https://www.eucast.org (Erişim tarihi: 10.05.2024)
152. Mohammed AB, Anwar KA. Phenotypic and genotypic detection of extended spectrum beta lactamase enzyme in Klebsiella pneumoniae. PloS One. 2022;17(9):e0267221.
153. Chen W-p, Kuo T-T. A simple and rapid method for the preparation of gram-negative bacterial genomic DNA. Nucleic Acids Research. 1993;21(9):2260.
154. Boyd D, Tyler S, Christianson S, McGeer A, Muller M, Willey B, et al. Complete nucleotide sequence of a 92-kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto, Canada. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2004;48:3758-64.
155. Arlet G, Brami G, Decre D, Flippo A, Gaillot O, Lagrange P, et al. Molecular characterisation by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM β-lactamases. FEMS Microbiology Letters. 1995;134(2-3):203-8.
156. Mazel D, Dychinco B, Webb VA, Davies J. Antibiotic resistance in the ECOR collection: integrons and identification of a novel aad gene. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 2000;44(6):1568-74.
157. Machado E, Cantón R, Baquero F, Galán J-C, Rollán A, Peixe Ls, et al. Integron content of extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli strains over 12 years in a single hospital in Madrid, Spain. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 2005;49(5):1823-9.
158. White PA, McIver CJ, Rawlinson WD. Integrons and gene cassettes in the Enterobacteriaceae. Antimicrobial Agents Ahemotherapy. 2001;45(9):2658-61.
159. Ozgumus OB, Tosun I, Aydin F, Kilic AO. Horizontol dissemination of TEM- and SHV-typr beta-lactamase genes-carrying resistance plasmids amongst clonical isolates of Enterobacteriaceae. Brazilian Journal of Microbiology. 2008;39:636-43.

160. Ocak H. Kan kültürlerinden izole edilmiş kinolon dirençli escherichia coli ve klebsiella spp. izolatlarında plazmid aracılı kinolon direncinin araştırılması [Uzmanlık tezi]: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2014.
161. Copur-Cicek A, Ozgumus OB, Saral A, Sandalli C. Antimicrobial resistance patterns and integron carriage of Escherichia coli isolates causing community-acquired infections in Turkey. Annals of Laboratory Medicine. 2014;34(2):139.
162. O'Neill. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. The Revıew on Antimicrobial Resistance. 2016.
163. Şahin K, Altan G. Kinolon Dirençli Escherichia coli İzolatlarında Diğer Antibiyotiklere Direnç Oranlarının Araştırılması. Journal of Biotechnology Strategic Health Research 2019;3(3):197-202.
164. Eltai NO, Yassine HM, Al Thani AA, Abu Madi MA, Ismail A, Ibrahim E, et al. Prevalence of antibiotic resistant Escherichia coli isolates from fecal samples of food handlers in Qatar. Antimicrobial Resistance Infection Control. 2018;7:1-7.
165. Cambrea SC. Antibiotic susceptibility of Escherichia coli strains isolated in a pediatric population from South Eastern Romania. Journal of Pediatric Infectious Diseases. 2014;9(03):157-62.
166. Amaya E, Reyes D, Vilchez S, Paniagua M, Möllby R, Nord CE, et al. Antibiotic resistance patterns of intestinal Escherichia coli isolates from Nicaraguan children. Journal of Medical Microbiology. 2011;60(2):216-22.
167. Barreto Â, Guimarães B, Radhouani H, Araújo C, Gonçalves A, Gaspar E, et al. Detection of antibiotic resistant E. coli and Enterococcus spp. in stool of healthy growing children in Portugal. Journal of Basic Microbiology. 2009;49(6):503-12.
168. Şahin F. Kilis içme suyu kaynaklarında fekal koliform düzeyinin belirlenmesi ve çoklu antibiyotik dirençliliği: Fen Bilimleri Enstitüsü; 2018.
169. Fleece ME, Nshama R, Walongo T, Kimathi C, Gratz J, McQuade ETR, et al. Longitudinal assessment of antibiotic resistance in fecal Escherichia coli in Tanzanian Children. The American Journal of Tropical Medicine Hygiene. 2019;100(5):1110.

170. Ding Y, Saw W-Y, Tan LWL, Moong DKN, Nagarajan N, Teo YY, et al. Extended-Spectrum β-Lactamase-producing and mcr-1-positive Escherichia coli from the gut microbiota of healthy Singaporeans. Applied Environmental Microbiology. 2021;87(20):e00488-21.
171. Agrawal P, Ghosh A, Kumar S, Basu B, Kapila K. Prevalence of extended-spectrum β-lactamases among Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates in a tertiary care hospital. Indian Journal of Pathology Microbiology. 2008;51(1):139-42.
172. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clinical Microbiology Reviews. 1995;8(4):557-84.
173. Hall BG, Barlow M. Evolution of the serine beta-lactamases: past, present and future. Drug Resistance Updates. 2004;7(2):111-23.
174. Kliebe C, Nies B, Meyer J, Tolxdorff-Neutzling R, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 1985;28(2):302-7.
175. Husna A, Rahman MM, Badruzzaman A, Sikder MH, Islam MR, Rahman MT, et al. Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. Biomedicines. 2023;11(11):2937.
176. Taşlı H, Bahar IH. Molecular characterization of TEM-and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases in hospital-based Enterobacteriaceae in Turkey. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2005;58(3):162-7.
177. Jimenez-Rojas V, Villanueva-García D, Miranda-Vega AL, Aldana-Vergara R, Aguilar-Rodea P, Lopez-Marceliano B, et al. Gut colonization and subsequent infection of neonates caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Frontiers in Cellular Infection Microbiology. 2024;13:1322874.
178. Liakopoulos A, Mevius D, Ceccarelli D. A review of SHV extended-spectrum β-lactamases: neglected yet ubiquitous. Frontiers in Microbiology. 2016;7:219996.
179. Köseoğlu O. Integrons. Mikrobiyol Bülteni. 2004;38(3):305-12.

180. Collis CM, Kim MJ, Stokes H, Hall RM. Integron-encoded IntI integrases preferentially recognize the adjacent cognate attI site in recombination with a 59-be site. Molecular Microbiology. 2002;46(5):1415-27.
181. El-Sokkary MMA, Abdelmegeed ES. Characterisation of class 1 integron among Escherichia coli isolated from Mansoura University Hospitals in Egypt. Advances in Microbiology. 2015;5(04):269.
182. Nijssen S, Florijn A, Top J, Willems R, Fluit A, Bonten M. Unnoticed spread of integron-carrying Enterobacteriaceae in intensive care units. Clinical Infectious Diseases. 2005;41(1):1-9.
183. Gillings MR. Integrons: past, present, and future. Microbiology Molecular Biology Reviews. 2014;78(2):257-77.
184. Kheiri R, Akhtari L. Antimicrobial resistance and integron gene cassette arrays in commensal Escherichia coli from human and animal sources in IRI. Gut pathogens. 2016;8:1-10.
185. Laroche-Ajzenberg E, Flores Ribeiro A, Bodilis J, Riah W, Buquet S, Chaftar N, et al. Conjugative multiple-antibiotic resistance plasmids in Escherichia coli isolated from environmental waters contaminated by human faecal wastes. Journal of Applied Microbiology. 2015;118(2):399-411.
186. Moura A, Araújo S, Alves MS, Henriques I, Pereira A, Correia AC. The contribution of Escherichia coli from human and animal sources to the integron gene pool in coastal waters. Frontiers in Microbiology. 2014;5:419.
187. Sandalli C, Buruk CK, Sancaktar M, Ozgumus OB. Prevalence of integrons and a new dfrA17 variant in Gram-negative bacilli which cause community-acquired infections. Microbiology and Immunology. 2010;54(3):164-9.
188. Ozgumus OB, Sandalli C, Sevim A, Celik-Sevim E, Sivri N. Class 1 and class 2 integrons and plasmid-mediated antibiotic resistance in coliforms isolated from ten rivers in northern Turkey. The Journal of Microbiology. 2009;47:19-27.
189. Grinsted J, De La Cruz F. The Tn21 subgroup of bacterial transposable elements. Plasmid. 1990;24(3):163-89.

190. Byrne-Bailey K, Gaze WH, Zhang L, Kay P, Boxall A, Hawkey P, et al. Integron prevalence and diversity in manured soil. Applied Environmental Microbiology. 2011;77(2):684-7.
191. Murshed M, Shahnaz S, Malek M. Detection of resistance gene marker intl1 and antimicrobial resistance pattern of E. coli isolated from surgical site wound infection in Holy Family Red Crescent Medical College Hospital. Bangladesh Journal of Medical Microbiology. 2012;4.
192. Skurnik D, Le Menac'h A, Zurakowski D, Mazel D, Courvalin P, Denamur E, et al. Integron-associated antibiotic resistance and phylogenetic grouping of Escherichia coli isolates from healthy subjects free of recent antibiotic exposure. Antimicrob Agents Chemotherapy. 2005;49(7):3062-5.
193. Vinué L, Saenz Y, Somalo S, Escudero E, Moreno MA, Ruiz-Larrea F, et al. Prevalence and diversity of integrons and associated resistance genes in faecal Escherichia coli isolates of healthy humans in Spain. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2008;62(5):934-7.
194. Mengeloğlu FZ, Çiçek AÇ, Koçoğlu E, Sandallı C, Budak EE, Özgümüş OB. Klinik Örneklerden İzole Edilen Acinetobacter baumannii ve Pseudomonas aeruginosa Suşlarının Sınıf 1 ve 2 İntegron Taşıyıcılığı ve Yeni Bir Gen Kaseti Birlikteliği: $bla_{OXA-11-cmlA7}$. Mikrobiyol Bulteni. 2014;48(1):48-58.
195. Copur A, Saral A, Duzgun A, Cizmeci Z, Kayman T, Balci P, et al. Screening of Class 1 and Class 2 integrons in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa collected from seven hFEMospitals in Turkey: A multicenter study. Open Journal of Medical Microbiology. 2013;3(04).
196. Ozgumus OB, Caylan R, Tosun I, Sandalli C, Aydin K, Koksal I. Molecular epidemiology of clinical Pseudomonas aeruginosa isolates carrying IMP-1 metallo-β-lactamase gene in a university hospital in Turkey. Microbial Drug Resistance. 2007;13(3):191-8.

# 8. ÖZGEMİŞ

**Bireysel Bilgiler**

Adı-Soyadı: Soner YILDIZ

Doğum tarihi: 15.10.1994

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

**Eğitim**

Ordu Anadolu Öğretmen Lisesi 2008-2012

Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fakültesi 2012-2018

Recep Tayyip Erdoğan Üni. Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji 2020-2024

**Mesleki Deneyimi**

Ordu Devlet Hastanesi (27 Eylül 2018-13 Aralık 2018)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi (27 Aralık 2018-15 Ekim 2019))

Recep Tayyip Erdoğan Üni. Eğitim ve Arş. Hastanesi (4 Mayıs 2020-Devam ediyor)