T.C.

RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KİNOLON DİRENÇLİ VE DUYARLI KLİNİK *Escherichia coli* SUŞLARI ARASINDAKİ VİRÜLANS GEN ORANLARININ KIYASLANMASI

DR. MUSTAFA ÖZCAN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. OSMAN BİROL ÖZGÜMÜŞ

UZMANLIK TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2023

Bu tez çalışmasının Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eseri olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Mustafa Özcan

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

K - Q
TSE-ISO-EN
9000

Sayı : E-40465587-050.01.04-433 18.05.2022
Konu : Etik Kurul

Sayın Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz "**Kinolan Dirençli ve Duyarlı Klinik Escherichia Coli Suşları Arasındaki Virulans Gen Oranlarının Karşılaştırılması**" isimli başvurunuz etik kurulumuz yönergesine göre 12.05.2022 tarihinde yapmış olduğu toplantıda incelenmiş olup, 2022/118 karar numarası ile bilimsel ve etik yönden uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini saygılarımla rica ederim.

Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU
Başkan

Bu belge güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu : 93679f073ef0 ***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

EK-1

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Mustafa Özcan'a ait
"Kinolona dirençli ve duyarlı klinik Escherichia coli suşları arasındaki virülans gen ekspresyonlarının karşılaştırılması"
..." adlı çalışma jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 10/05/2023

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ

Jüri Başkanı Recep Tayyip Erdoğan ..... Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi Karadeniz Teknik ..... Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi Recep Tayyip Erdoğan ..... Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi Recep Tayyip Erdoğan ..... Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi Recep Tayyip Erdoğan ..... Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ömer SATIROĞLU
Dekan

TEŞEKKÜR

Tıbbi ve Klinik Mikrobiyoloji tezi olarak sunduğum bu bilimsel çalışmanın hiçbir aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Prof. Dr. Osman Birol Özgümüş'e, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile her daim yanımda olan hocam Dr. Öğr. Üyesi İlkay Bahçeci'ye, bölüm hocalarım Prof. Dr. Zihni Açar Yazıcı ve Doç. Dr. Kazım Şahin'e, tezimle ilgili bilgi ve emeklerini esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım Dr. Ömer Faruk Duran'a, tezimde yoğun emek harcayan Erva Rakıcı'ya, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum kıdemlilerim Uzm. Dr. Yunus Emre İbik, Uzm. Dr. Nuray Arslan ve Uzm. Dr. Hamiyet Büşra Gündoğdu ve asistan arkadaşlarım Dr. Esra Karaca Semerci, Dr. Duygu Aksoy, Dr. Soner Yıldız ve Dr. Yunus Emre Alpdoğan'a, bana her zaman inanan ve destekleri ile yanımda olan sevgili eşim Şura Peru Özcan'a, bu günlere gelmemde en büyük paya sahip annem Mukadder Özcan, babam Arif Özcan ve kardeşim Merve Özcan'a ve manevi desteklerini esirgemeyen kardeşim gibi gördüğüm Tuğşad Serter'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Bu Tez, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Tarafından TTU-2022-1386 Numaralı Proje ile Desteklenmiştir.

ÖZET

Giriş ve Amaç: *Escherichia coli (E. coli),* intestinal enfeksiyonların yanı sıra idrar yolları, kan dolaşım enfeksiyonları ve yenidoğan menenjiti gibi ekstraintestinal birçok enfeksiyona yol açarak morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedir. Ayrıca son yıllarda artan antibiyotik direnci endişe vericidir. Bu nedenle servis ve poliklinik hastalarından elde edilen ekstraintestinal örneklerden izole edilen klinik *E. coli* suşlarının kinolon direnç, filogenetik grup, virülans gen özellikleri ve birbirleriyle olan ilişkileri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: İdrar, kan, solunum örnekleri ve yara/doku örneklerinden izole edilen toplamda 91 *E. coli* suşunun disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı. PZR yöntemi ile belirlenen *hlyA, cnf1* ve *sfa/focDE* virülans genleri belirlendi. Ayrıca yine PZR yöntemi ile *yjaA, chuA* ve TSPE4.C2 incelenmiş olup bu suşlar 4 filogenetik gruba ayrılmış ve birbirleriyle olan ilişkileri Pearson ki-kare veya Fisher Exact testleri ile istatistiksel olarak incelendi.

Bulgular: En yaygın filogenetik grup, 91 suşun 56'sını (%61.5) oluşturan grup D idi. Grup D aynı zamanda en virülan gruptu ve *sfa/focDE* ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.01) En fazla bulunan virülans geni *sfa/focDE* idi ve 12 suşta (%13.2) pozitifti. İdrar örneklerinden elde edilen suşlarda en fazla direnç ampisilinde (41/%55.4) gözlenirken idrar dışı örneklerde piperasilinde (14/%82.4) gözlendi. Siprofloksasin direnci ise, idrar örneklerinden 27 suşta (%36.5); idrar dışı örneklerde ise 9 suşta (%52.9) tespit edildi. Hiçbir suşta imipenem, meropenem ve amikasin direnci gözlenmedi.

Tartışma ve Sonuç: Kinolon direncinin görece yüksek olması daha ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanımını kısıtlayabileceğinden endişe vericidir. Karbapenem dirençli suş bulunmasa da akılcı olmayan antibiyotik kullanımları bu antibiyotik grubuna dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Ayrıca en yaygın bulunan grubun aynı zamanda en virülan olması endişe vericidir. Virülans geni ile filogenetik grup arasındaki ilişki yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar vermekte olup bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Öte yandan epidemiyolojik çalışmaların sürekli yapılarak bu ve benzeri konularda veri tabanının oluşturulması önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, filogenetik grup, kinolon, virülans geni

ABSTRACT

Introduction and Aim: *Escherichia coli (E. coli)* can cause morbidity and mortality by causing many extraintestinal infections such as urinary tract, bloodstream infections and neonatal meningitis as well as intestinal infections. In addition, increasing antibiotic resistance in recent years is a concern. For this reason, quinolone resistance, phylogenetic group, virulence gene characteristics and relations with each other of clinical *E. coli* strains isolated from extraintestinal samples obtained from ward and outpatient clinic patients were investigated.

Materials and Methods: Antibiotic susceptibility tests of 91 E. coli strains isolated from urine, blood, respiratory samples and wound/tissue samples were performed by disc diffusion method. The virulence genes of *hlyA, cnf1* and *sfa/focDE* were determined by PCR method. In addition, *yjaA, chuA* and TSPE4.C2 were examined by PCR method, and these strains were divided into 4 phylogenetic groups and their relationships with each other were analyzed statistically by Pearson chi-square or Fisher Exact tests.

Results: The most common phylogenetic group was group D, which comprised 56 (61.5%) of 91 strains. Group D was also the most virulent group and its relationship with *sfa/focDE* was statistically significant (p=0.01). The most common virulence gene was sfa/focDE and it was positive in 12 strains (13.2%). The highest resistance was observed in ampicillin (41/55.4%) in strains obtained from urine samples, while piperacillin (14/82.4%) was observed in non-urine samples. Ciprofloxacin resistance was detected in 27 strains (36.5%) from urine samples and 9 strains (52.9%) from non-urine samples. Imipenem, meropenem and amikacin resistance was not observed in any of the strains.

Discussion and Conclusion: It is a concern that the relatively high quinolone resistance may limit its use in the treatment of more serious infections. Although there is no carbapenem-resistant strain, irrational use of antibiotics may lead to the emergence of strains resistant to this antibiotic group. It is also of concern that the most common group is also the most virulent. The relationship between the virulence gene and the phylogenetic group gives different results in studies, and more studies are needed on this subject. Moreover, it is important to establish a database on this and similar issues by continuously conducting epidemiological studies.

Keywords: *E. coli*, phylogenetic group, quinolone, virulence gene

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR……i

ABSTRACT……ii

İÇİNDEKİLER……vi

ŞEKİLLER DİZİNİ……..ix

TABLOLAR DİZİNİ……x

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ……...xi

1. GİRİŞ VE AMAÇ……..1

2. GENEL BİLGİLER……...4

2.1. Escherichia coli……4

2.1.1. Tarihçesi……4

2.1.2 Genel Özellikleri……4

2.1.3. Klinik Önemi……4

2.1.4. Sınıflandırması……7

2.1.5. Virülans Genleri……...8

2.2. Kinolonlar……..10

2.2.1. Tarihçesi……..10

2.2.2. Kinolonların Etki Mekanizması……...12

2.2.3. Kinolonlara Direnç ve Nedenleri……..13

2.2.4. Kinolonlara Direnç Mekanizması……14

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER……...15

3.1.Gereçler……...15

3.1.1. Besiyerleri ……..15

3.1.2. Kimyasallar ……...15

3.1.3. Cihazlar……...15

3.1.4. Kontrol Suşları……...…16

3.1.5. Diğer Malzemeler……...……17

3.2. Yöntem……...……17

3.2.1. Çalışma Suşlarının Toplanması ve Stoklanması ……17

3.2.2. Kültür ve Bakteri Tanımlanması……..…17

3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri (ADT) ……...18

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR) ……..19

3.4.1. DNA izolasyonu……..19

3.4.2. Virülans ve Filogrup Genlerinin PZR ile Taranması…….20

3.4.2.1. PZR Koşulları…….21

3.4.2.2. Agaroz Jel Elektroforez Solüsyonları Hazırlanması……...22

3.4.2.2.1.TAE Elektroforez Tamponu……..…22

3.4.2.2.2..Etidyum Bromid Solüsyonu…….22

3.4.2.2.3. 10X Orange Red Solüsyonu (Yükleme Tamponu).22

3.4.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme: ……..23

3.5. İstatistiki Veriler……...23

4. BULGULAR…….23

4.1. Suşların Genel Özellikleri……23

4.2. Suşların Antimikrobiyal Test Sonuçları…….26

4.3. Suşların Filogenetik Sınıflandırılması…….30

4.4. Suşların Virülans Genleri…….35

4.5. Filogenetik Grup-Virülans Gen İlişkisi……..38

4.6. Filogenetik Grup ile Kinolon Direnci Arasındaki İlişkisi…….39

4.7. Virülans Genleri İle Kinolon Direnci Arasındaki İlişkisi…….40

5. TARTIŞMA……..41

6. SONUÇ VE ÖNERİLER…….49

7. KAYNAKLAR…….50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. *E. coli* suşlarının patojenitelerine göre sınıflandırılması

Şekil 2. Kuşaklara göre kinolonların şematik görüntüsü

Şekil 3. EMB besiyerinde metalik refle vermiş *E. coli*

Şekil 4. *E. coli* identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal testler

Şekil 5. Mueller Hinton agarda antimikrobiyal duyarlılık testi yapılmış bir *E. coli* suşu (orijinal)

Şekil 6. E. coli virülans genlerinin agaroz jel elektroforez analizi.

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Master-miks içerik, konsantrasyon ve miktarları gösterilmiştir

Tablo 2. Genlerin oligonükleotit primer dizileri ve amplikon büyüklükleri

Tablo 3. Çalışmada kullanılan PZR protokolleri

Tablo 4. Suşların örnek/hasta özelliklerine ve gelen birimlere göre dağılımları

Tablo 5. Cinsiyet ve örnek türü arasındaki ilişki

Tablo 6. Poliklinik ve servis hastalarında örnek dağılımı

Tablo 7. İdrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının antimikrobiyal direnç durumu

Tablo 8. İdrar örneklerinden izole edilen dirençli *E. coli* suşlarının oranları

Tablo 9. İdrar dışı örneklerden izole edilen *E. coli* suşlarının direnç durumu

Tablo 10. İdrar dışı örneklerden izole edilen dirençli *E. coli* suşlarının oranları

Tablo 11. Hasta yatış durumu ve kinolon direnç durumu arasındaki

Tablo 12. Suşların dikotomi (ikili karar ağacı) metoduyla yapılmış filogenetik dağılımı

Tablo 13. Suşlar ve tespit edilen virülans genleri

Tablo 14. Filogenetik Grup-Virülans Gen İlişkisi

Tablo 15. Filogenetik sınıf ile kinolon direnci arasındaki ilişki

Tablo 16. Virülans genleri ile kinolon direnci arasındaki ilişkisi

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

İnPEC **:** İntestinal Patojenik *E. coli*

EksPEC **:** Ekstraintestinal Patojenik *E. coli*

İYE **:** İdrar Yolları Enfeksiyonu

DSÖ **:** Dünya Sağlık Örgütü

PAKD **:** Plazmit Aracılı Kinolon Direnci

SNF1 **:** Sitotoksik Nekrotizan Faktör 1

DEC **:** Diyarojenik *E. coli*

UPEC **:** Üropatojen *E. coli*

NMEC **:** Neonatal Menenjit Etkeni *E. coli*

APEC **:** Avian Patojen *E. coli*

SEPEC **:** Sepsis İlişkili *E. coli*

O **:** Somatik Antijen

H **:** Flajellar Antijen

K **:** Kapsül Antijeni

ÇİD **:** Çoklu İlaca Direnç

MİK **:** Minimal İnhibitör Konsantrasyonu

KKA **:** Koyun Kanlı Agar

EMB **:** Eosin Metilen Blue

MHA **:** Mueller Hinton Agar

TSI **:** Triple Sugar Iron

SIM **:** Sülfat İndol Motilite

NaCl **:** Sodyum Klorür

LB **:** Luria Bertani

EUCAST **:** European committee on antimicrobial susceptibility testing

AMP **:** Ampisilin

PİP **:** Piperasilin

TZP **:** Piperasilin Tazobaktam

SAM **:** Ampisilin Sülbaktam

AMC **:** Amoksisilin Klavulonat

CXM **:** Sefuroksim

CAZ **:** Seftazidim

CRO **:** Seftriakson

FEP **:** Sefepim

FOX **:** Sefoksitin

AZT **:** Aztreonam

MEM **:** Meropenem

İMP **:** İmipenem

TİG **:** Tigesiklin

CN **:** Gentamisin

AK **:** Amikasin

CİP **:** Siprofloksasin

F **:** Nitrofrontain

SXT **:** Trimetoprim Sülfometoksazol

PZR **:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu

bp **:** Base pair

ADT **:** Antibiyotik Duyarlılık Testi

SPSS **:** Statistical Package for Social Sciences

s,% **:** Sayı,Yüzde

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Escherichia coli, insanların ve çeşitli hayvanların normal bağırsak florasında bulunan bir bakteridir (Čurová ve ark., 2020). İnsan vücudunun normal bir kommensali olan *E. coli*, mobil genetik elementler kazanarak oldukça adaptif bir patojen haline gelir (Harwalkar ve ark., 2014), Bazı suşların gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına neden olduğu, bazılarının ise gastrointestinal sistem dışında enfeksiyonlara neden olduğu açıklanmıştır (Čurová ve ark., 2020).

İntestinal patojenik *Escherichia coli* suşları (İnPEC) genellikle ishale neden olurlarken; ekstraintestinal patojenik *E. coli* suşları (EksPEC), tüm yaş gruplarını etkileyen çeşitli klinik hastalıklara neden olan en yaygın gram negatif bakteriyel patojen grubudur (Riley, 2014; Poolman & Wacker, 2015) EksPEC yaşlı bireyler ve yenidoğanlarda sık görülen bakteriyeminin en yaygın nedenidir (Poolman & Wacker, 2015).

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) insanları etkileyen en yaygın enfeksiyonlar arasındadır (Giray ve ark., 2012). Dünya çapında yılda yaklaşık 150 milyon kişiye İYE teşhisi konduğu tahmin edilmektedir. Üst ve alt idrar yollarını tutan bu tip bakteriyel enfeksiyonların en yaygın etiyolojik ajanı, vakaların yaklaşık %80'ini temsil eden *E. coli* suşlarıdır (Fasugba ve ark., 2015).

Escherichia coli suşlarının patojenitesinden birçok virülans faktörü sorumludur. İki ana tip *E. coli* virülans faktörü vardır; bunlar, (i) hücre içinde üretilen ve etki bölgesinde salınan virülans faktörlerini ve (ii) hücrenin yüzeyinde bulunan virülans faktörlerini içerir (Özad Düzgün ve ark., 2019). EksPEC'in virülans faktörleri arasında toksinler, adezinler, demir alım sistemleri (sideroforlar), kapsül sentez proteinleri, koruyucular ve invazinler bulunur (Čurová ve ark., 2020). Bu virülans faktörleri; kolonizasyona, invazyona ve sonuç olarak konakçı bağışıklık tepkilerinin azalmasına neden olur (Adib ve ark., 2014).

En önemli *E. coli* virülans faktörleri, yüzey virülans faktörleri olan adezinlerdir. P fimbria, *pap* genleri tarafından kodlanır ve ana yapışma faktörüdür. *sfa* genleri tarafından kodlanan S lifli yapışma faktörleri, başka bir tür virülans faktörünü temsil eder (Özad Düzgün ve ark., 2019). S fimbriae, insanlarda alt idrar yolunun epitelyal ve endotelyal hücrelerine

bağlanma etkinliği gösterir. Çalışmalar, *sfa/focDE* geninin sistit ve/veya piyelonefrit için gerekli olduğunu göstermiştir (Adib ve ark., 2014).

Toksin sentezinden sorumlu virulans faktörleri; α-hemolizin, sitotoksik nekrotizan faktör 1 (SNF1) ve aerobaktin sırasıyla *hlyA, cnf1* ve *aer* genleri tarafından kodlanır (Özad Düzgün ve ark., 2019). Bu toksinlerden SNF insanlarda bağırsak dışı enfeksiyonlara neden olan ve büyük oranda *E. coli* suşları tarafından üretilen güçlü bir toksindir (Adib ve ark., 2014). α-hemolizinin sitolitik etkisi, epitel bariyeri yoluyla bakteri invazyonunun gerçekleştirilmesinden sorumludur (Lee ve ark., 2016). ChuA bakterinin yüzeyinde bulunan ve bakterinin ihtiyacı olan demir iyonlarının alımını sağlayan hemin reseptör proteinidir (Zalewska-Piątek B, 2011).

Filogenetik çalışmalar, *E. coli*'nin dört ana filogenetik gruba ayrıldığını ortaya koymuştur ki bu gruplar A, B1, B2 ve D'dir. Günümüzde bu filogenetik analiz, *chuA* (heme taşınması için gerekli), *yjaA* (fonksiyonu henüz bilinmemektedir) genleri ve bir DNA fragmanı olan TSPE4.C2'nin bulunup bulunmamasına göre yapılır (Lee ve ark., 2016).

Kinolonlar, geniş bir aktivite spektrumuna ve iyi biyoyararlanıma sahip, sentetik bakterisidal ajanlardır (Măciucă ve ark., 2020). Bu antibiyotik grubu dünyada en sık reçete edilen antibakteriyel sınıflardan biridir ve insanlarda çeşitli bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır (Aldred ve ark., 2014). Bunlar arasında İYE, gastroenterit, prostatit, toplum kökenli pnömoni, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, bel soğukluğu gibi hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerin neden olduğu birçok bakteriyel enfeksiyon sayılabilir (Bush ve ark., 2020).

Siprofloksasin, oral ve intravenöz preparatları mevcut olduğu, oral uygulamadan sonra gastrointestinal sistemden iyi emildiği, belgelenmiş bir güvenlik profili olduğu, geniş Gram-negatif organizma spektrumuna ve yüksek idrar atılım hızına sahip olduğu için İYE'ler başta olmak üzere en sık reçete edilen florokinolondur (Fasugba ve ark., 2015).

Florokinolonlara karşı antibakteriyel direnç, hem insanlarda hem de hayvanlarda yaygın şekilde kullanılmasının ardından ortaya çıkmıştır (Bush ve ark., 2020). Artan kinolon direnci, bu ilaçların kullanımını tehdit eden yaygın bir klinik sorun haline gelmiştir (Aldred ve ark.,

2014a). Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) hayvancılıkta kullanımlarının azaltılmasını önermiştir (Abdel-Rhman ve ark., 2021).

Kinolon direnç mekanizmasına baktığımızda genellikle DNA giraz (DNA topoizomeraz II) ve/veya DNA topoizomeraz IV'ün belirli bölgelerindeki mutasyonlarla ilişkilidir. (Ma ve ark., 2021) Ayrıca plazmit aracılı kinolon direnç (PAKD) genleri de kinolon direncine neden olabilmekte ve kromozomal kinolon direnç mekanizmalarının gelişimine olumlu katkıda bulunmaktadır. (Belotindos ve ark., 2021). Kinolon direnci kazandıran diğer tanımlanmış kromozomal mutasyonlar; ilacın alım sistemlerinin azaltılması, akış pompalarının aşırı üretimi ve bunların aşırı üretimini kontrol eden düzenleyicilerle ilgili olanları içerir (Bush ve ark., 2020).

Bu çalışmada Rize Eğitim Araştırma hastanesinden elde edilen klinik *E. coli suş*larının;

1) Virülans potansiyelleri ile antimikrobiyal dirençleri arasında bir ilişki olup olmadığı,

2) Virülan olan ve olmayan suşların hangi filogenetik sınıfa ait olduğu,

3) Siprofloksasin direnci ile filogenetik sınıf arasında bir ilişkinin olup olmadığı ve

4) Bu suşların direnç profilleri ve virülans özellikleri bakımından; poliklinik ve servis hastaları arasındaki dağılım değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Escherichia coli*

2.1.1. Tarihçesi

Escherichia coli ilk kez 1885 yılında Bavyeralı doktor Theodor Escherich (1857-1911) tarafından ishalden muzdarip bir çocuğun dışkısında izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Mainil, 2013; Martinson & Walk, 2020). Escherich, bu bakteriye *Bacterium coli* ismini vermiş ancak *Bacterium coli* komünü 1919'da Theodor Escherich'i onurlandırmak için *Escherichia coli* olarak yeniden adlandırmıştır (Alfelali ve ark., 2016; Martinson & Walk, 2020). Günümüzde *E. coli* olarak bilinen bu organizma, bakteri genetiğini şekillendirmiştir (Alfelali ve ark., 2016).

2.1.2. Genel Özellikleri

Escherichia coli , Enterobacterales familyasına ait Gram-negatif, çubuk şeklinde bir bakteridir (Mainil, 2013). İnsanların ve de çeşitli hayvanların normal bağırsak floralarında bulunur (Čurová ve ark., 2020). Tipik olarak, doğumdan sonraki birkaç saat içinde yenidoğanların gastrointestinal sistemini kolonize etmekte ve konakçılarla karşılıklı yarar sağlayan kommensal bir ilişki içinde yaşamaktadır (Allocati ve ark., 2013; Liu ve ark., 2020).

İnsan normal florasının kommensali olan *E. coli*, mobil genetik elementler kazanarak oldukça adaptif bir patojen haline gelir ve bu sayede hastalıklara neden olur (Allocati ve ark., 2013; Harwalkar ve ark., 2014). Gastrointestinal sistem enfeksiyonları başta olmak üzere, İYE, kan dolaşımı ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonları gibi birçok ekstraintestinal enfeksiyona neden olur (Harwalkar ve ark., 2014).

2.1.3 Klinik Önemi

Escherichia coli suşları, serotiplendirme, neden oldukları hastalıkların klinik belirtileri ve ifade ettikleri virülans mekanizmaları ile karakterize edilmiştir (Law & Chart, 1998). Enfeksiyonun yeri dikkate alınarak, *E. coli* suşları iki kategoriye ayrılır: İnPEC ve EksPEC (Aleksandrowicz ve ark., 2021). Mevcut virülans faktörünün tipine ve klinik semptomlara bağlı olarak, *E. coli* suşları İnPEC için altı ana patotip halinde sınıflandırılırken, EksPEC suşları 4‘e ayrılmaktadır (Allocati ve ark., 2013).

İntestinal patojenik *Escherichia coli* suşları, belirli virülans faktörlerine sahip olmalarına bağlı olarak farklı patotiplere ayrılan diyarejenik *E. coli* (DEC) grubudur (Askari Badouei ve ark., 2016). Küresel olarak dağıtılan DEC suşları; Shiga toksini üreten, enteropatojenik, enterotoksijenik, enteroinvaziv, enteroagregatif ve diffüz adherent olarak sınıflandırılır. Bununla birlikte, bu çok yönlü patojen grup için virülans genlerinin kendine özgü bir kombinasyonunu gösteren suşların ortaya çıkması beklenmedik değildir (Askari Badouei ve ark., 2016). Örneğin 2011'de Almanya'da yaygın ve şiddetli bir gıda kaynaklı hastalık salgınına yol açan yeni Shiga toksini üreten *E. coli* O104:H4 suşu gibi bulaşıcı hastalıklara neden olan patojenler giderek daha fazla tanımlanmaktadır (Liu ve ark., 2020).

Son zamanlarda insanlarda en yaygın Gram-negatif patojen olarak tanınan EksPEC suşları; çeşitli, genellikle son derece özelleşmiş ve ekolojik nişleri kolonize edebilen çok çeşitli *E. coli* patotipleridir (Wasiński, 2019). EksPEC sıklıkla hastane kaynaklı ve toplumla ilişkili enfeksiyonlarla ilişkilidir (Allocati ve ark., 2013). EksPEC enfeksiyonlarına bağlı küresel morbidite ve mortalite oranları artmakta olup bu nedenle önem arz etmektedir (Poolman & Wacker, 2015). İYE, kan dolaşımı enfeksiyonları, pnömoni, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve yenidoğan menenjiti gibi çok sayıda ekstraintestinal enfeksiyonda rol oynar (Čurová ve ark., 2020).

Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli* suşlarının birçok soy içerdiği bilinmektedir ancak enfeksiyonların çoğundan yalnızca belirli bir kısım sorumludur (da Rocha ve ark., 2021). Ekstraintestinal suşlar özellikle insanlarda karakteristik olan, üropatojen *E. coli* (UPEC), sepsis ile ilişkili *E. coli* (SEPEC), neonatal menenjit ile ilişkili *E. coli* (NMEC) ve kanatlılarda meydana gelen enfeksiyondan sorumlu olan avian patojenik *E. coli* (APEC) olmak üzere 4 patotip içerir (Aleksandrowicz ve ark., 2021). Şekil 1'de *E. coli* suşlarının patojenitelerine göre sınıflandırılması şematize edilmiştir.

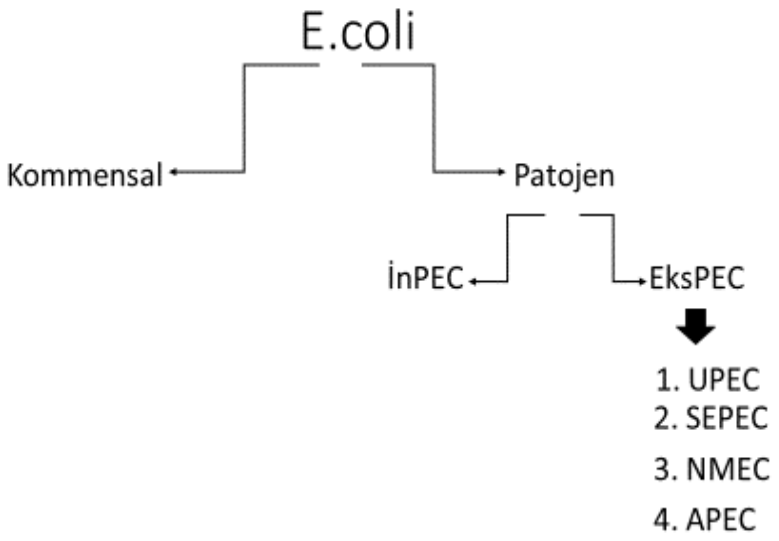
İdrar yolları enfeksiyonları, insan popülasyonunda en yaygın bakteriyel enfeksiyon olmaya devam etmektedir ve aynı zamanda en sık görülen hastane enfeksiyonlarından biridir (Dadi ve ark., 2020). UPEC suşları idrar yolunu kolonize eden başlıca enfeksiyon etkenidir ve vakaların yaklaşık %80'inden sorumludur (Zalewska-Piątek B, 2011; Allocati ve ark., 2013).

Yenidoğan bakteriyel menenjiti önemli mortalite ve morbidite ile ilişkilidir (Zhao ve ark., 2018). Mortalite oranları özellikle yenidoğan döneminde %10 ile %15 arasında

değişmektedir (Y. Liu ve ark., 2021). Yoğun bakımdaki gelişmelere rağmen, hayatta kalanlar işitme kaybı, gelişimsel gecikme ve bilişsel bozukluk gibi nörolojik sekelleri sürdürürler (Zhao ve ark., 2018). *Streptococcus agalactiae* ile birlikte EksPEC, neonatal menenjitin önde gelen nedenidir ve erken başlangıçlı menenjitin de (doğumdan sonra ilk 3 gün içinde gözlenen) %30'unu oluşturur (Poolman & Wacker, 2015; Y. Liu ve ark., 2021). Ayrıca yenidoğan menenjitinin nüksetmesine en yaygın olarak *E. coli* neden olur ve güçlü antibiyotiklere rağmen bebeklerin %2-21'inde görülür (Allocati ve ark., 2013).

Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli* grubunun bir başka üyesi APEC suşlarıdır (da Rocha ve ark., 2021). Kanatlılarda APEC'in neden olduğu hastalık topluca kuş kolibasilozu olarak adlandırılır ve kümes hayvanlarında en sık görülen bulaşıcı bakteriyel hastalık olup, genellikle hava keselerinde, kalpte ve karaciğerde lezyonlar ve ardından septisemi ve ölümle karakterizedir (Fancher ve ark., 2021). APEC suşları insanlarda ve kuşlar dahil diğer hayvanlarda hastalığa neden olabilmekte ve bu suşlar nedeniyle çiftlik kuşlarında yüksek bir ölüm oranı gözlenmektedir (Aleksandrowicz ve ark., 2021; Kimura ve ark., 2021). Bu yüksek ölüm oranları büyük ekonomik kayıplara yol açar (Wang ve ark., 2021). Kolibasiloz şu anda kanatlı endüstrisinde azalan kuluçka oranları, yumurta üretimi, büyüme ve artan ölüm oranı nedeniyle ekonomik kayıpların önemli bir nedenidir. (Mol ve ark., 2019)

Bakteriyel sepsis, bakterilerin kan dolaşımını ve diğer organları enfekte ettiği bir durumdur (Tibo ve ark., 2016). Bakteriyemi için vaka ölüm oranları %13 ile %19 arasındadır ancak hastane enfeksiyonu olan yaşlı kişilerde çok daha yüksek (%60'a kadar) olabilir (Poolman & Wacker, 2015). Bu durumlarda hastanın kanından en sık izole edilen mikroorganizma *E. coli*'dir (Tibo ve ark., 2016).



Şekil 1: *Escherichia coli* suşlarının patojenitelerine göre sınıflandırılması (Sarowska ve ark., 2019).

2.1.4. Sınıflandırılması

Patojenik suşlarda spesifik virülans faktörlerinin tanımlanmasından önce, *E. coli* temel olarak lipopolisakkarit (O) ve flagellar (H) antijenlerinin serolojik tanımlaması temelinde sınıflandırıldı (Allocati ve ark., 2013). *Escherichia coli*'nin klasik serolojik tiplendirmesi, ilk olarak 1940'larda Kauffman tarafından tanımlanan ve Frits ve Ida Orskov tarafından geliştirilen O, H ve K yüzey antijenlerine dayanmaktadır (Poolman & Wacker, 2015). Şu anda 171 O, 55 H ve 80 K antijeni tanımlanmıştır ve 160'ın üzerinde serolojik *E. coli* türü vardır (Sarowska ve ark., 2019). *Escherichia coli*'nin çeşitli patotipleri, O antijenik yapısı kullanılarak serogruplara; veya O ve H antijenik yapıları kullanılarak serotiplere ayrılır (Kaper ve ark., 2004). Ancak teknik zorluklar nedeniyle K antijenleri nadiren kullanılmaktadır (Martinson & Walk, 2020).

Escherichia coli'nin filogenetik sınıflandırmasına baktığımızda 2000 yılında Clermont ve arkadaşları bir siderofor (*chuA*), bir virulans (*yjaA*) genlerini ve bir DNA fragmanını (TSPE4.C2) hedefleyen bir multipleks PCR prosedürü yayınladı (Skjøt-Rasmussen ve ark., 2013; Clermont ve ark., 2000). Günümüzde filogenetik analiz, bu üç genetik işaretleyiciyi

hedefleyen bir yöntemle yapılmaktadır (Lee ve ark., 2016). Suşlar, bu üç genetik bölgenin varlığına veya yokluğuna dayalı olarak filogruplardan birine atanır (örn. B1 suşları, *chuA*'nın yokluğu ve TSPE4.C2'nin varlığı ile tanımlanır) (Skjøt-Rasmussen ve ark., 2013). Filogenetik çalışmalar, *E. coli*'nin A, B1, B2 ve D olmak üzere dört ana filogenetik gruba ayrıldığını göstermiştir (Čurová ve ark., 2020).

Üropatojen *Escherichia coli* dahil olmak üzere ekstraintestinal enfeksiyonlardan sorumlu suşların çoğu B2 grubuna veya daha düşük bir derecede D grubuna aitken, gastrointestinal sistem mukozasında meydana gelen hiçbir patojenik özelliği olmayan kommensal *E. coli*, çoğunlukla A veya B1 grubuna aittir (Lee ve ark., 2016; Sarowska ve ark., 2019; Dadi ve ark., 2020)

2.1.5. Virülans Genleri

Escherichia coli suşlarının patojenitesinden birçok virülans faktörü sorumludur ki EksPEC'i kommensal *E. coli*'den ayıran en önemli özellikler de başarılı kolonizasyonlarına izin veren bu virülans özellikleridir (Özad Düzgün ve ark., 2019; Wasiński, 2019). EksPEC'in virülas faktörleri arasında toksinler, adezinler, demir alım sistemleri (sideroforlar), kapsül sentez proteinleri, koruyucular ve invazinler bulunur (Čurová ve ark., 2020). Sadece en başarılı virülans faktörlerinin kombinasyonları, sağlıklı bireylerde hastalığa neden olabilen *E. coli*'nin spesifik patotiplerinin meydana gelmesine neden olmuştur (Kaper ve ark., 2004).

En önemli *E. coli* virülans faktörleri, yüzey virülans faktörleri olan adezinlerdir (Özad Düzgün ve ark., 2019). Adezinler (örn. P-fimbria, S-fimbria), EksPEC'in enfeksiyon başlangıcı sırasında farklı konakçı dokulara adapte olmasını sağlayan spesifik reseptörlere bağlanmasına izin verir (Čurová ve ark., 2020). Bu sayede kolonizasyon aşaması ve konak bağışıklığının üstesinden gelerek *E. coli* suşlarının patojenitesinde önemli rol oynar (Adib ve ark., 2014). P fimbria, *pap* genleri tarafından kodlanan ana yapışma faktörü iken, *sfa* genleri tarafından kodlanan S fimbrial yapışma faktörleri ise başka bir virülans faktörünü temsil eder (Özad Düzgün ve ark., 2019). Çalışmalar, *papEF* ve *sfa/focDE*'nin sistit ve/veya piyelonefrit için gerekli olduğunu göstermiştir (Adib ve ark., 2014).

α-hemolizin, SNF1 ve aerobaktin gibi toksinler *E. coli*'deki diğer önemli virülans faktörleridir (Özad Düzgün ve ark., 2019). İnsan hücrelerine ve dokularına zarar verir

(Čurová ve ark., 2020). Bu toksinler, konak hücre şeklini ve/veya işlevini değiştirerek patojen tarafından uyarılan biyolojik süreçlere katkıda bulunabilir (Tibo ve ark., 2016). α-hemolizin, SNF1 ve aerobaktin sırasıyla *hlyA, cnf1* ve *aer* genleri tarafından kodlanır (Özad Düzgün ve ark., 2019). Ayrıca *cnf1* ve *hlyA,* UPEC *suş*larında da yaygın olarak bulunur ve α-hemolizin, üroepitelyal hücrelerin hücre iskeletini değiştirerek mesane üroepitelyumunun dökülmesine ve üroepitelyal bariyer fonksiyonunun bozulmasına neden olur (Michaud ve ark., 2017). Bu da doku hasarlarına ve patogeneze katkı sağlar (Adib ve ark., 2014). Ayrıca insan SEPEC'i ile ilgili çeşitli virülans faktörleri arasında α-hemolizin ve SNF1'in bulunduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Tibo ve ark., 2016).

İnsan ve hayvan enfeksiyonlarından kaynaklanan bazı *E. coli* suşlarının SNF'leri eksprese ettiği rapor edilmiştir (Falbo ve ark., 1993). SNF1, İYE ve menenjite neden olan bazı patojenik *E. coli* suşları ile ilişkili bir bakteriyel virülans faktörüdür (Carlini ve ark., 2021).

Escherichia coli'de üç SNF tipi tanımlanmıştır, ancak SNF2 ve SNF3 sıklıkla saptanmaz (McCoy ve ark., 2021). SNF1, yaklaşık 115 kDa ağırlığında bir proteindir ve *E. coli* K1 enfeksiyonundan kaynaklanan yenidoğan menenjitinin patogenezinde iyi tanımlanmış bir rolü vardır (Falbo ve ark., 1993; Michaud ve ark., 2017). SNF2 üreten suşların aksine, SNF1 üreten suşların büyük çoğunluğunun aynı zamanda α-hemolizin ürettiği de gösterilmiştir (Falbo ve ark., 1993). SNF1 üreten β-hemolitik *E. coli* suşları en belirgin olarak insanlarda İYE ve meningeal enfeksiyonlara neden olur (Feng ve ark., 2017). SNF1, sistite neden olan UPEC suşlarının %31-44'ünde, piyelonefrite neden olan UPEC suşlarının ise %36-48'inde tespit edilmiştir (Michaud ve ark., 2017). UPEC'nin %40'ının üriner sistemdeki hücrelerin yayılmasında ve kalıcılığında rolü olan SNF1 ürettiği bildirilmektedir (Lee ve ark., 2016). SNF, UPEC suşları tarafından üretilen ve G2 hücre döngüsünün durmasıyla sonuçlanan hücre iskeleti değişikliklerine neden olan bir toksindir. Bu eylemler epitelyal dönüşümü bozar ve *E. coli* kolonizasyonuna katkıda bulunur (McCoy ve ark., 2021).

Bakteriyel büyüme için temel bir besin olan demirin varlığı, memeli konakçılarda ciddi şekilde sınırlıdır. Demir için konakçı ile rekabet edebilmek amacıyla patojenik bakteriler, bu temel büyüme faktörünü elde etmek için farklı mekanizmalar geliştirmiştir (Nagy ve ark., 2001). Bu nedenle bakteriyel patogenezde demir taşıma sistemleri önemlidir

(Torres & Payne, 1997). Hem alımından sorumlu olan 69-kDa'lık bir dış zar proteinini kodlayan *chuA* geni tanımlanmıştır (Nagy ve ark., 2001). Bu gen, hem reseptör proteini demir iyonları kaynağına erişmek için gereklidir (Zalewska-Piątek B, 2011).

2.2. Kinolonlar

2.2.1. Tarihçesi

Kinolon antibiyotikler bugüne kadarki en başarılı topoizomeraz inhibitörleri sınıfıdır (Bush ve ark., 2020). Kinolonlar, geniş bir aktivite spektrumuna ve iyi biyoyararlanıma sahip bir dizi sentetik bakterisidal ajan içerirler ki bu durum onları kutanöz, üriner sistem, solunum yolları, kemik, gastrointestinal sistem gibi çeşitli lokalizasyonlara sahip enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için uygun adaylar haline getirir (Măciucă ve ark., 2020).

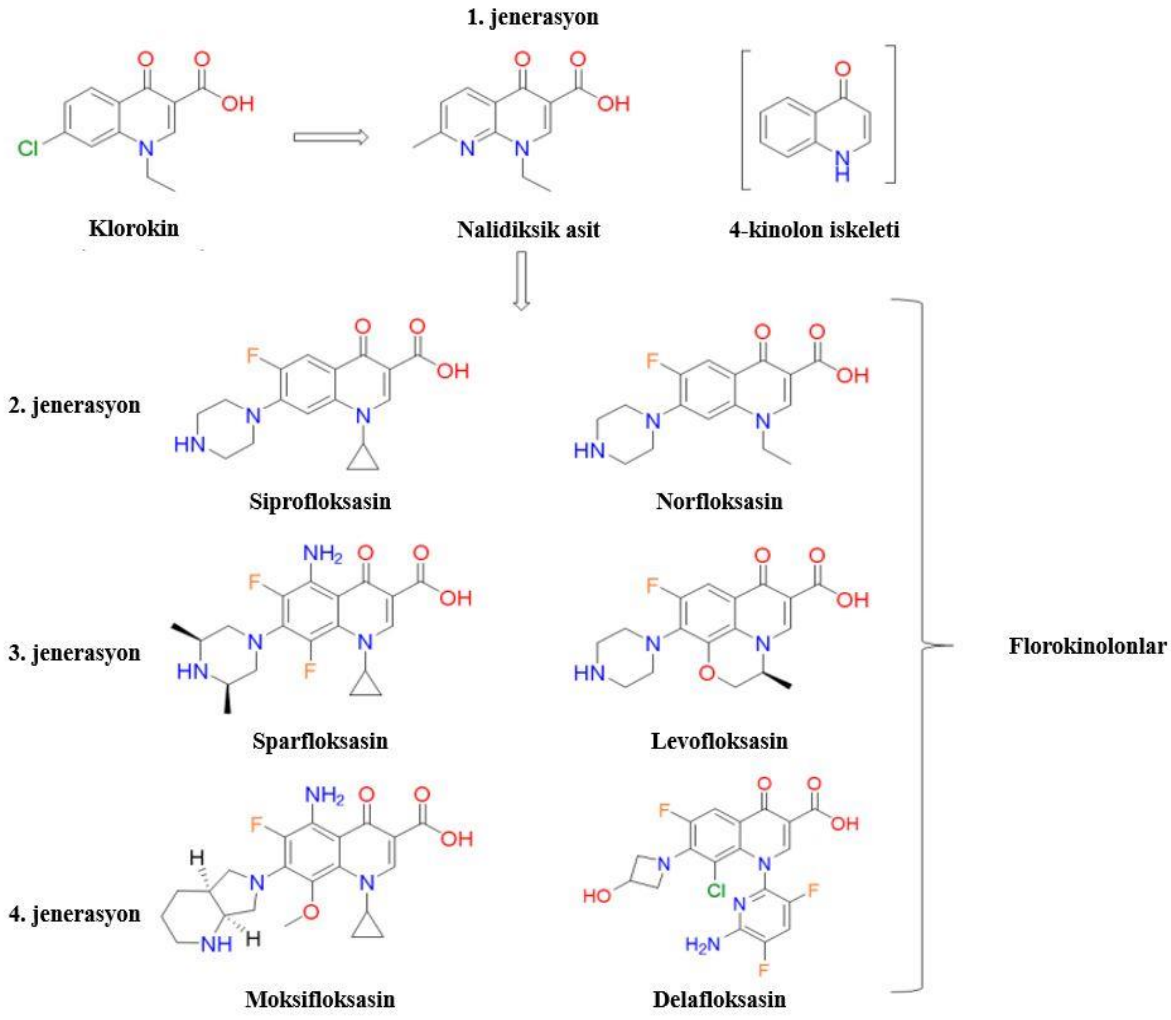
Kinolonlar ilk kez 1949 yılında sentezlenmiş ve bazı türevleri 1950 yılında patentlenmiş olsa da kinolon çağının nalidiksik asit keşfi ile başladığı düşünülmektedir (Ruiz, 2019; Bush ve ark., 2020). Bu ilaç sınıfının kurucu üyesi olan nalidiksik asit, ilk olarak 1962'de George Lesher ve meslektaşları tarafından klorokin sentezinin bir yan ürünü olarak bulunmuştur (Aldred ve ark., 2014). Nalidiksik asit kullanımına ilişkin ilk klinik araştırma raporları 1963'e aittir (Ruiz, 2019).

Nalidiksik asidin belirli Gram-negatif patojenlere karşı aktif olduğu kanıtlanmıştır ki bu durum onun İYE tedavisinde kullanımına olanak sağlamıştır (Măciucă ve ark., 2020). İYE'nin tedavisi ile sınırlı olmasına rağmen bu ajan, özellikle gelişmekte olan bazı ülkelerde gastrointestinal sistem enfeksiyonları gibi diğer enfeksiyonların tedavisinde de rol oynamıştır (Ruiz, 2019). Bu aktivite spektrumu ve serum konsantrasyonu açısından nalidiksik asit üzerinde çok az gelişme olmasına rağmen, ek analogların sentezi hızlanmış ve sonraki yıllarda kinolon ailesi büyümüştür (Ruiz, 2019; Bush ve ark., 2020). 1970'lere gelindiğinde, en dikkat çekici olanı oksolinik asit olmak üzere, piromidik asit, sinoksasin ve pipemidik asit eklenmiştir (Aldred ve ark., 2014; Ruiz, 2019). Daha sonrasında 6. pozisyona flor atomunun (florokinolonlar) ve 7. Pozisyona bir piperazin halkasının bağlanmasıyla önemli değişiklikler elde edilmiş, kinolonların tarihinde bir sonraki adım olan florokinolon çağı başlamıştır (Ruiz, 2019; Măciucă ve ark., 2020). Bu flor atomu daha sonra klinik uygulamaya giren hemen hemen tüm kinolonlarda korunmuş ve büyük ölçüde genişletilmiştir (Ruiz, 2019).

Antimikrobiyal spektrum ve farmakolojik özelliklere dayanarak kinolonlar dört sınıfa ayrılabilir : İlk kinolon olan nalidiksik asitin karbon 6 atomu üzerine bir flor atomunun eklenmesi ve karbon 7'ye bir piperazin halkasının eklenmesiyle daha geniş aktivite kapsamına ve daha iyi biyoyararlanıma sahip olan ikinci nesil kinolonlar oluşmuştur (Măciucă ve ark., 2020; Bush ve ark., 2020). Norfloksasin, siprofloksasin ve ofloksasin gibi bu yeni ilaçlar, giraza karşı önemli ölçüde gelişmiş aktivite, Gram-pozitif organizmalara daha fazla penetrasyon ve gelişmiş farmakokinetik ve farmakodinamik özellikler sergilemiştir (Aldred ve ark., 2014). Bu sayede hem insan hem de veteriner tıbbında Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan önemli antibiyotikler haline gelmişlerdir (Ma ve ark., 2021).

Siprofloksasinin, oral ve intravenöz preparatları mevcut olduğundan, oral uygulamadan sonra gastrointestinal sistemden iyi emildiğinden, belgelenmiş bir güvenlik profiline ve yüksek idrar atılım hızına sahip olduğundan ve ayrıca geniş Gram-negatif organizma kapsamına sahip olduğundan İYE'ler için en sık reçete edilen florokinolon olmuştur (Fasugba ve ark., 2015). DSÖ, siprofloksasini (diğer florokinolonlar arasında) kritik derecede önemli bir antibiyotik olarak sınıflandırmıştır (Bush ve ark., 2020).

Siprofloksasinin başarısını takiben, gözlemlenen yapı-aktivite ilişkileri daha fazla araştırılmış ve daha da geniş aktivite spektrumuna, daha fazla etkinliğe ve daha düşük bir direnç prevalansına sahip çok çeşitli yeni nesil florokinolonlar (üçüncü ve dördüncü nesiller) üretilmiştir (Bush ve ark., 2020). Levofloksasin, sparfloksasin (3. Kuşak) ve moksifloksasin (4.kuşak) en başarılı olanlardır ve Gram-pozitif solunum yolu enfeksiyonlarına karşı iyi aktivite gösterirler (Aldred ve ark., 2014). Ayrıca, tüberküloza (tüberküloz; şu anda dünyanın en ölümcül bakteriyel enfeksiyon hastalığıdır) neden olan bakteri türü olan *Mycobacterium tuberculosis*, hem moksifloksasine hem de levofloksasine duyarlıdır ve çoklu ilaca dirençli (ÇİD) tüberküloz enfeksiyonları tedavisinde kullanılıdır (Bush ve ark., 2020). Şekil 2'de kuşaklara ayrılmış kinolonlar şematize edilmiştir.



Şekil 2: Kuşaklara göre kinolonların şematik görüntüsü (Bush ve ark., 2020).

Özetle, kinolon çağının başlangıcından bu yana, 10.000'den fazla kinolon sentezlenmiş ve etkinlikleri ve özellikleri araştırılmıştır. 40'tan fazlası hem insan hem de veterinerlik uygulamaları için onaylanmıştır. Şu anda, Avrupa Birliği ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 21 kinolon klinik kullanımındadır (Ruiz, 2019).

2.2.2. Kinolonların Etki Mekanizması

Kinolonlar, kromozomal parçalanma ve bakterilerin ölümü ile sonuçlanan DNA topoizomeraz II (giraz) ve topoizomeraz IV'ün aktivitesini engelleyerek bakterilerde DNA transkripsiyonunun ve replikasyonunun inhibisyonuna neden olur (Belotindos ve ark., 2021).

DNA giraz, dairesel, çift sarmallı bakteriyel DNA yapısındaki negatif süper sarmalların oluşumunu katalize eder. Topoizomeraz IV ise çift sarmallı DNA molekülünü transkripsiyon ve replikasyon süreçleri için hazırlar ve DNA çift sarmallarının replikasyon sürecinin sonunda ayrılmasını kolaylaştırır (Măciucă ve ark., 2020). Kinolonların, enzimin her iki alt birimiyle (giraz için GyrA ve GyrB ve topoizomeraz IV için ParC ve ParE) etkileşimleri olduğu gösterilmiş olsa da mikobakterilerde ve Gram-negatif bakterilerin çoğunda ağırlıklı olarak DNA girazın aktivitesini bozarken, Gram-pozitif bakterilerde birincil olarak topoizomeraz IV'e etki etmektedir (Bush ve ark., 2020; Măciucă ve ark., 2020). Kinolonlar, bu iki enzimin aktivitesini doğrudan bağlanma yoluyla değil, bir kinolon-bakteriyel DNA-enzim kompleksinin oluşumu yoluyla inhibe eder ve bu şekilde hücre ölümüne neden olur (Aldred ve ark., 2014).

Kinolonlar, konsantrasyonlarına bağlı olarak bakterileri yavaş veya hızlı bir şekilde öldürür. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerinin iki katı olan konsantrasyonlarda, bakteriler bir gecelik kinolon tedavisinden sonra ölürken, MİK değerinin 5-10 katı konsantrasyonlarda, bakteriler birkaç saatlik kinolon maruziyetinden sonra ölür (Bush ve ark., 2020).

2.2.3. Kinolonlara Direnç ve Nedenleri

Antimikrobiyal ajanlar, ekonomik yük oluşturan hastalıklarla savaşmak için gerekli araçlardır ve aynı zamanda hem hayvanlar hem de insanlar için sağlık, refah ve gıda güvenliğine katkıda bulunurlar (Belotindos ve ark., 2021). Bu ajanların artan tüketimi ve uygunsuz kullanımları antimikrobiyal direnci arttırmakta ve bu durumu küresel bir sağlık sorunu haline getirmektedir (Allocati ve ark., 2013).

Kinolonlar, *E. coli*'nin neden olduğu İYE'leri tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Özad Düzgün ve ark., 2019). Ayrıca florokinolonlar, septisemi gibi daha ciddi enfeksiyonların tedavisinde önemli bir role sahip olduklarından, kritik öneme sahip, en yüksek öncelikli dört antibiyotik arasında yer almaktadır (Fasugba ve ark., 2015). Florokinolonların bu şekilde hem insanlarda hem de hayvanlarda yaygın kullanılmasının ardından antibakteriyel direnç ortaya çıkmış ve bu durum bu ilaçların kullanımını tehdit eden yaygın bir klinik sorun haline gelmiştir (Aldred ve ark., 2014; Bush ve ark., 2020)

Erken çalışmalar nalidiksik aside dirençli klinik suşların varlığını tanımlamış olsalar da, 1980'lere kadar kinolon direnci raporları olağan dışı olmuş, 1990'larda kinolon kullanımının katlanarak büyümesine paralel olarak kinolon dirençli mikroorganizmaların tanımlanmaları hızla artmıştır (Ruiz, 2019).

Kinolon dirençli suşların hızla gelişmesi ve artması nedeniyle DSÖ, hayvancılıkta kullanımlarının azaltılmasını önermiştir (Belotindos ve ark., 2021). En son Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği kılavuzları, ilaca dirençli patojenlerin seçimi ve ÇİD organizmalar ile kolonizasyon veya enfeksiyon gibi antimikrobiyal tedavinin olumsuz sonuçları nedeniyle florokinolonların daha ciddi klinik kullanımlar için saklanmasını önermektedir (Fasugba ve ark., 2015).

Florokinolon kullanımı ile görülen direnç artışının yanı sıra, bu ilaçların özellikle öldürücü ve//veya tedavi edici dozlarının altında kullanımının, diğer antibiyotiklere de direnci artırabileceğine dair kanıtlar vardır (Bush ve ark., 2020).

2.2.4. Kinolonlara Direnç Mekanizması

Bakteriyel antibiyotik direnci, içsel veya edinilmiş mekanizmalar yoluyla elde edilebilir (Alekshun & Levy, 2007). İç direnç; antimikrobiyallerin etkisini sınırlayan belirli bir mikroorganizmanın tüm karakteristik özelliklerini içerir (Fernández & Hancock, 2012). Gram-negatif patojenler olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* veya birçok bakteride gözlenen yapısal akış pompalarında olduğu gibi, düşük geçirgenliğe sahip yarı geçirgen bir dış zara sahip olmak örnek olarak verilebilir (Fernández & Hancock, 2012). Ayrıca Gram-negatif bakterilerin AmpC, β-laktamazları ve birçok ÇİD'e neden olan akış sistemi gibi konağın kromozomunda bulunan doğal olarak oluşan genler tarafından belirtilen mekanizmalar da yine örnek olarak verilebilir.

Edinilmiş mekanizmalar; antibiyotik tarafından hedeflenen genlerdeki mutasyonları ve plazmitler, bakteriyofajlar, transpozonlar ve diğer mobil genetik materyal üzerinde taşınan direnç belirleyicilerinin transferini içerir (Alekshun & Levy, 2007). Başlangıçta duyarlı bir mikroorganizma ya yeni genetik materyal (plazmitler, transpozonlar, integronlar, çıplak DNA, vb.) dahil ederek ya da mutasyonların bir sonucu olarak dirençli hale gelebilir (Fernández & Hancock, 2012). Genel olarak, bu değişim, transdüksiyon (bakteriyofajlar yoluyla), konjugasyon (plazmitler ve konjugatif transpozonlar yoluyla) ve transformasyon

(kromozomal DNA, plazmitler ve ölmekte olan organizmalardan gelen diğer DNA'ların kromozomuna dahil edilmesi) süreçleri yoluyla gerçekleştirilir (Alekshun & Levy, 2007).

Bakterilerde kinolon direnci gelişiminin üç mekanizma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ma ve ark., 2021). Bu mekanizmalar; dışa akış pompalarının aşırı üretimi, porinler vasıtasıyla ilacın girişinin azalmasını, plazmit aracılı direnç genlerinin varlığını ve giraz veya topoizomeraz IV genlerindeki gerçek mutasyonları içerir (Bush ve ark., 2020).

Bu mekanizmalar tek başlarına olabildikleri gibi birlikte de görülebilir ve çok yüksek seviyelerde kinolon direnci sergileyen suşlar oluşturmak için birikebilir (Aldred ve ark., 2014).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1.Gereçler

3.1.1. Besiyerleri

a) KKA (koyun kanlı agar): RTA, Türkiye

b) EMB (eosin methylene blue) agar: RTA, Türkiye

c) MHA (mueller hinton agar): RTA, Türkiye

d) TSI (triple sugar iron) agar: RTA, Türkiye

e) Hareket besiyeri SIM (Sulfide Indole Motility) agar: RTA, Türkiye

f) Sitrat besiyeri: RTA, Türkiye

g) Üre besiyeri: RTA, Türkiye

h) Kan kültürü şişeleri: BacT/ALERT®: BioMérieux, Fransa

3.1.2. Kimyasallar

a) Triptik soy besiyeri: Biolife, İtalya

b) Maya özütü: Pronadisa, İspanya

c) Sodyum Klorür (NaCl): Sigma-Aldrich, Almanya

3.1.3. Cihazlar

a) Etüv: Nüve incubator EC160: Nüve, Türkiye

b) Sınıf 2 kabin: Mars safety class training institute: Scanlaf, Danimarka

c) Gram boyama cihazı: Previ Color: BioMérieux, Fransa

d) Işık mikroskobu: Leica, Almanya

e) Otomatik Mikrobiyoloji Sistemi: VITEK® 2 Compact: BioMérieux, Fransa

f) Vorteks: Velp Scientifica, İtalya

g) Mikrosantrifüj: Beckman coulter, ABD

h) Soğutmalı santrifüj: Hettich Rotina 380R, Almanya

i) Çalkalamalı inkübatör: IKA 4000i, Almanya

j) Termosayklırlar: Techne Genius: Thermo Fisher Scientific, ABD

k) Elektroforez tankı: Cleaver, İngiltere

l) Elektroforez güç kaynağı: Thermo Fisher Scientific, ABD

m) Jel dökümantasyon ve işleme sistemi: DNR Bio-Imaging Systems: MiniLumi, İsrail

n) UV transillüminatörü: Vilber lourmat, Fransa

o) PHmetre: Hanna, ABD

p) Mikrodalga fırın: Bosch, Almanya

r) Distile su cihazı: GFL, Almanya

s) Pastör fırını: Ecocell, Almanya

t) -80°C derin dondurucu: New Brunswick Scientific Ultra Low Temperature Freezer U570, ABD

u) -20°C derin dondurucu: Bosch, Almanya

v) Otoklav: Nüve steamArt: Nüve, Türkiye

3.1.4. Kontrol suşları

a) *Escherichia coli* ATCC 25922

b) *Escherichia coli* ATCC 35218

3.1.5. Diğer Malzemeler

a) Mikrosantrifüj Tüpü: Kirgen, Türkiye

b) Isıtıcı blok: HLC Tech, Almanya

c) Hassas terazi: Pioneer, Çin

d) Otomatik pipetler: Rainin, ABD

3.2. Yöntem

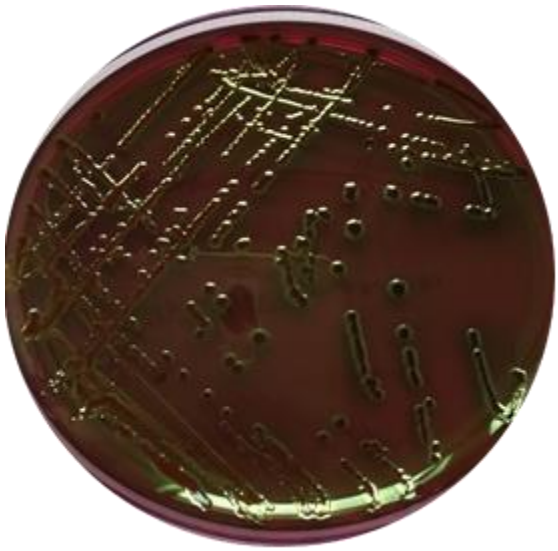
3.2.1. Çalışma Suşlarının Toplanması ve Stoklanması

Bu çalışmaya 05.2021-07.2021 tarihleri arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli hastane birimlerinin poliklinik ve servis hastalarından gelen idrar, kan, solunum yolu, doku ve yara örnekleri dahil edildi

Elde edilen suşlar için yapılan canlandırma işlemine kadar Luria-Bertani Buyyon (LB) besiyerine ekilip %15-20 gliserol ilave edilerek -20 ve -80 °C'de saklandı.

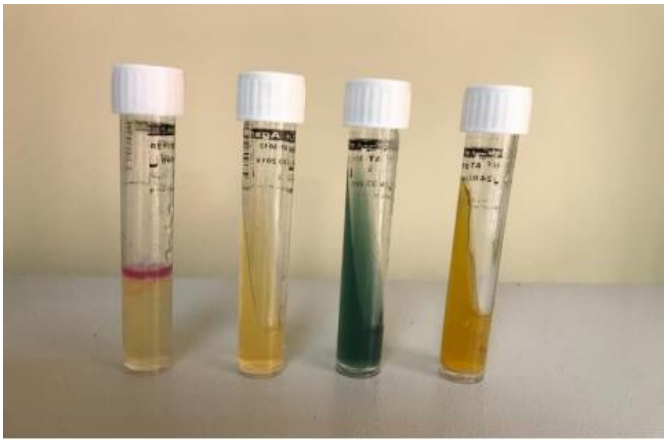
3.2.2. Kültür ve Bakteri Tanımlanması

Gelen örnekler, %5 KKA ve EMB agara ekilmiş ve 24-48 saat 37° C'de inkübe edilerek üreme durumu incelendi. Üreyen bakteriler Gram boyama metodu ile boyanarak Gram-negatif basil oldukları teyit edildi. Şekil 3'te *E. coli*'nin EMB agarda üreme görüntüsü paylaşılmaktadır.



Şekil 3: EMB besiyerinde metalik refle vermiş *E. coli* (orijinal)

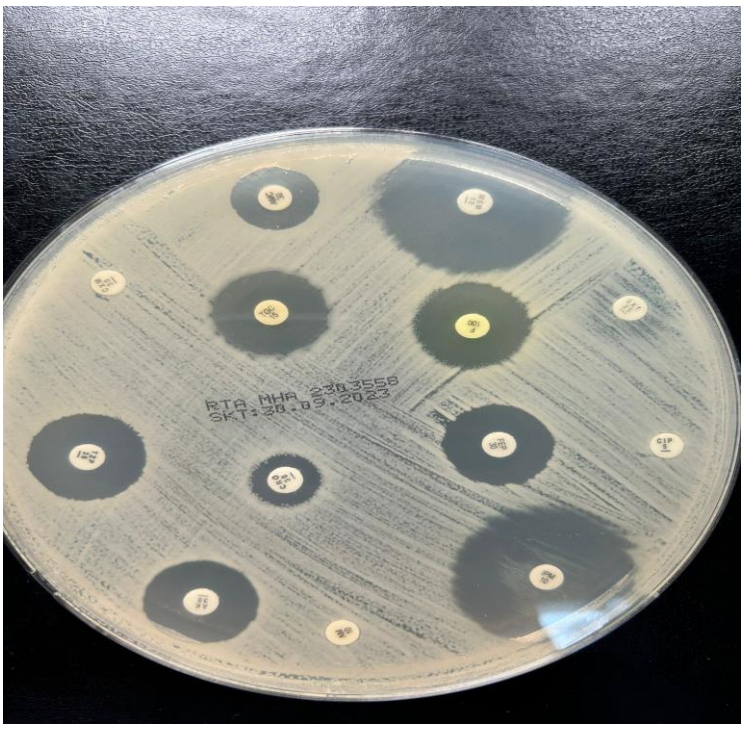
İzole edilen suşların biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla TSI, üre, sitrat ve SIM agara ekimi yapıldı. Koloni morfolojileri, Gram boyama sonuçları ve biyokimyasal testler (Şekil 4) beraber değerlendirilerek *E. coli* suşları tanımlandı.



Şekil 4: *E. coli* identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal testler (Soldan sağa; indol (+) , üreaz (-) , sitrat (-), glukoz, laktoz ve sükrozu fermente etmiş) (orijinal)

3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri (ADT)

Üreyen suşlar 0.5 McFarland yoğunluğu (1.5 X 10^8 CFU/ml) ayarlanarak MHA'ya (Şekil 5) ekildi. Ekilen suşların idrar örnekleri için, ampisilin (AMP, 10 µg), piperasilin (PİP, 30 µg), piperasilin/tazobaktam (TZP, 30-6 µg), ampisilin/sülbaktam (SAM, 10-10 µg), amoksisilin/klavulanat (AMC, 20-10 µg), sefuroksim (CXM, 30 µg), seftazidim (CAZ, 10 µg), seftriakson (CRO, 30 µg), sefepim (FEP, 30 µg), sefoksitin (FOX, 30 µg), aztreonam (AZT, 30 µg), meropenem (MEM, 10 µg), imipenem, (İMP, 10 µg), tigesiklin (TİG, 15 µg), gentamisin (CN, 10 µg), amikasin (AK, 30 µg), siprofloksasin (CİP, 5 µg), nitrofrontain (F, 100 µg) ve trimetoprim/sulfametoksazol (SXT, 1.25-23.75 µg); idrar dışı örnekler için ise piperasilin (PİP, 30 µg), piperasilin/tazobaktam (TZP, 30-6 µg), seftazidim (CAZ, 10 µg), sefepim (FEP, 30 µg), sefoksitin (FOX, 30 µg), meropenem (MEM, 10 µg), imipenem, (İMP, 10 µg), tigesiklin (TİG, 15 µg), gentamisin (CN, 10 µg), amikasin (AK, 30 µg), siprofloksasin (CİP, 5 µg) ve trimetoprim/sulfametoksazol (SXT, 1.25-23.75 µg); antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları tespit edildi. Sonuçlar EUCAST 2021 (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) versiyon 11.0 göre değerlendirildi (EUCAST, 2023).



Şekil 5: Mueller hinton agarda antimikrobiyal duyarlılık testi yapılmış bir *E. coli* suşu (orijinal)

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR)

3.4.1. DNA izolasyonu:

Bu çalışmaya ait 91 suşun DNA izolasyonu kaynatma metodu ile gerçekleştirildi. Üç mL LB sıvı besiyerine inoküle edildi ve 20 saat 37˚ C'de çalkalamalı inkübatörde üretildi. Kültürün 1.5 mL'si mikrosantrifüj tüpü alınarak 13.000 rpm'de 1 dk çöktürüldü. Süpernatant atıldı ve pellet 1 mL deiyonize suda vortekslenerek çözüldü. Bu yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Üçüncü kez vorteks yapıldıktan sonra hücreler 100˚C'de 10-15 dk ısıtılarak lizise uğratıldı. Debris, 4˚C'de 13.000 rpm'de 10 dk santrifüjlenerek çöktürüldü. Süpernatant temiz bir ependorfa alınarak alikotlar halinde PZR'de kalıp DNA kaynağı olarak kullanılmak üzere -20 ve -80'de saklandı. İşlem sırasında kullanılan mastır-miks bileşenleri Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Mastır-miks içerik, konsantrasyon ve miktarları.

Reaksiyon bileşenleri	Stok konsantrasyon	Miktar(µL) 1X
Tampon	10X	2.5
dNTP mix	2.5 mM	0.5
$MgCl_2$	25 mM	1.5
Primer 1	10 pmol/µL	0.25
Primer 2	10 pmol/µL	0.25
Taq polimeraz	5 U/µL	0.1
Steril deiyonize su		18.9
Kalıp DNA		1
Toplam hacim		25

3.4.2. Virülans ve Filogrup Genlerinin PZR ile Taranması:

Laboratuvarımıza gelen; idrar, kan, solunum yolu, doku ve yara örneklerinden elde edilen 91 *E. coli* suşunda; *cnf*1, *hlyA, sfa/focDE* virülans genleri araştırıldı. Ayrıca suşların filogenetik sınıflandırılması için çoklu PZR temelli yöntem ile *yjaA,* TSPE4.C2 ve *chuA* genleri kullanılmış olup sınıflandırma bu genlerin varlığına ve yokluğuna göre yapıldı (Lee ve ark., 2016). Bu sınıflandırmada Clermont ve ark. tarafından geliştirilen dikotomi (ikili karar ağacı) metodu kullanıldı (Clermont vd., 2000). Negatif kontrol olarak master mix hazırlanırken su kullanıldı. Pozitif örneklerin değerlendirilmesi için 100 bp DNA Ladder (Vivantis) kullanıldı. Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi ve referanslarda belirtilen uygun programda çalıştırıldı. Çalışılan genlerle ilgili bilgiler Tablo 2'de verilmektedir.

Tablo 2. Genlerin oligonükleotit primer dizileri ve amplikon büyüklükleri.

Primer	Gen	Fonksiyon	DİZİ (5'→3')	Ürün büyüklüğü (bp)	Referans
cnf1-F *cnf1*-R	*cnf1*	Sitotoksik nekrozitan faktör üretimi	AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT	498	(Takahashi vd., 2006)
sfa/focDE-F *sfa/focDE*-R	*sfa/focDE*	Sfa (S fimbriya) ve foc (F1C fimbriya) operonlarının merkez bölgesi	CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA	410	(Johnson ve Stell, 2000)
hlyA-F *hlyA*-R	*hlyA*	α-Hemolisin üretimi	AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT AACATATAAGCGGTCATTCCCGTCA	1177	(Moreno vd., 2000)
chuA-F *chuA*-R	*chuA*	EHEC O157:H7'de hem transportu için gereken gen	GACGAACCAACGGTCAGGAT TGCCGCCAGTACCAAAGACA	279	(Clermont vd., 2000)
yjaA-R *yjaA*-F	*yjaA*	*E. coli* K12'de belirlendi, fonksiyonu şu anda bilinmiyor	TGAAGTGTCAGGAGACGCTG ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC	211	(Clermont vd., 2000)
TSPE4.C2 -F TSPE4.C2 -R	TSPE4.C2	DNA fragmanı	GAGTAATGTCGGGGCATTCA CGCGCCAACAAAGTATTACG	152	(Clermont vd., 2000)

3.4.2.1. PZR Koşulları

Çalışılan genlerin PZR protokolleri Tablo 3'te paylaşılmaktadır. Genler multipleks PZR olarak çalışıldı ve her bir termal döngü yaklaşık 2,5 saat sürdü. PZR amplifikasyon

işleminden sonra ürünler agaroz jel elektroforez cihazında yürütüldü. Genler var/yok olarak değerlendirildi.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan PZR protokolleri

Gen	Başlangıç Denaturasyonu	Siklus Sayısı	Denaturasyon	Bağlanma	Primer Uzama	Son Uzama
hlyA	94°C de 3 dk	30	94 °C de 1 dk	63°C de 30sn	72°C de 3 dk	72°C de 7 dk
cnf1	94°C de 3 dk	30	94 °C de 1 dk	63°C de 30sn	72°C de 3 dk	72°C de 7 dk
sfa/focDE	94°C de 3 dk	30	94 °C de 1 dk	63°C de 30sn	72°C de 3 dk	72°C de 7 dk
TSPE4.C2	94°C de 4 dk	30	94 °C de 5sn	59°C de 20sn	72°C de 20sn	72°C de 5 dk
yjaA	94°C de 4 dk	30	94 °C de 5sn	59°C de 20sn	72°C de 20sn	72°C de 5 dk
chuA	94°C de 4 dk	30	94 °C de 5sn	59°C de 20sn	72°C de 20sn	72°C de 5 dk

3.4.2.2. Agaroz Jel Elektroforez Solüsyonları Hazırlanması

3.4.2.2.1.TAE Elektroforez Tamponu

50X konsantre olarak hazırlandı. % 24.2 Tris base, % 5.71 glacial asetik asit, % 3.72 EDTA (pH~8.5) olacak şekilde deiyonize su kullanılarak hazırlandı. pH ayarlamak için, NaOH peletleri kullanıldı. Çalışma solüsyonu olarak distile veya deiyonize su ile sulandırılarak 1X solüsyon kullanıldı. Çalışma solüsyonunda 40 mM Tris-asetat, 2 mM EDTA içerik sağlanmış oldu.

3.4.2.2.2..Etidyum Bromid Solüsyonu

10 mg/mL (w/v) stok solüsyon olacak şekilde deiyonize su kullanılarak hazırlandı. Işık almayan ortamda muhafaza edildi.

3.4.2.2.3. 10X Orange Red Solüsyonu (Yükleme Tamponu)

50 mL için; 20g sükroz tartıldı 40 mL dH2O içerisinde çözüldü. 100mg Orange G çözeltiye eklenerek, çözeltinin hacmi 50mL'ye tamamlandı. Bir filtre yardımı ile steril edildi ve 1'er mL olacak şekilde 1.5mL'lik ependorflara dağıtıldı ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

3.4.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme:

Bu çalışmada PZR ürünlerinin yürütülmesinde %1.5-2 agaroz ve elektrolit olarak Tris EDTA asetik asit tamponu (pH 8.4) kullanıldı. Jele son konsantrasyonu 0.5 μg/mL olacak şekilde etidyum bromür eklendi. DNA'nın jel üzerinde izlenebilmesi için Orange G/sukroz yükleme tamponu kullanıldı. Örneklerin jelde dağılmaması için ilk etapta jel düşük voltta yürütüldükten sonra elektroforez tankının hızı 80-100 volt aralığına çıkartıldı (Ausubel vd., 1995). Bantların büyüklüklerinin belirlenmesi için moleküler ağırlık standardı 100 bp (base pair) DNA ladder ve daha önce genin var olduğu belirlenmiş pozitif kontrol örnekler kullanıldı. Oluşan bantlar UV transilluminatörde gözlendi ve jelin fotoğrafı jel görüntüleme cihazında çekildi ve değerlendirildi.

3.5. İstatistiki Veriler

Verilerin istatistik analizleri SPSS 25.0 (Statistical Package for Social Sciences, Inc., Chicago, Ilinois) paket programı kullanılarak yapıldı. Frekans tabloları, sayı, yüzde gibi tanımlayıcı istatistiklerden faydalanıldı. Tanımlayıcı değerler sayı (s), yüzde (%), ortalama olarak; kategorik veriler ise s,% olarak ifade edildi. Kategorik verilerin sıklık oranları arasındaki farkın karşılaştırılmasında Pearson's Ki-kare ve Fisher's uygunluk testleri kullanıldı. Yapılan testler için istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Suşların Genel Özellikleri

Bu çalışmada toplamda 91 klinik suş kullanılmış olup en çok gelen örnek tüm örneklerin 74'ünü (%81.3) oluşturan idrar örnekleri oldu. Daha sonra 11 örnek (%12.1) ile kan, 3 örnek (%3.3) ile solunum yolu ve 3 örnek (%3.3) ile yara/doku örnekleri geldi. En çok örnek gelen birimlere bakıldığında ise ilk sırada 20 örnek (%22) ile üroloji servisi, ikinci sırada 18 örnek (%19.8) ile dahiliye servisi ve üçüncü sırada 17 örnek (%18.7) ile acil polikliniği geldi. Bu çalışmaya dahil edilen örneklerin klinik/ hasta özelliklerine ve gelen birimlere göre dağılımları Tablo 4' te gösterilmektedir.

Tablo 4. Suşların örnek/hasta özelliklerine ve gelen birimlere göre dağılımları

	Poliklinik (s / %)	Servis (s / %)	Toplam (s / %)
Örnek			
İdrar	51 (56)	23 (25.3)	74 (81.3)
Kan	4 (4.4)	7 (7.7)	11 (12.1)
Solunum Yolu	0 (0)	3 (3.3)	3 (3.3)
Yara/ Doku	1 (1.1)	2 (2.2)	3 (3.3)
Birim			
Enfeksiyon Hastalıkları	2 (2.2)	9 (9.9)	11 (12.1)
Acil	17		17 (18.7)
Dahiliye	6 (6.6)	12 (13.2)	18 (19.8)
Üroloji	17 (18.7)	3 (3.3)	20 (22)
Evde Sağlık	4		4 (4.4)
Pediatri	6 (6.6)	0 (0)	6 (6.6)
Kadın Hastalıları	3 (3.3)	0 (0)	3 (3.3)
Covid	2 (2.2)	1 (1.1)	3 (3.3)
Göğüs Hastalıkları	1 (1.1)	3 (3.3)	4 (4.4)
Beyin Cerrahi	0 (0)	1 (1,1)	1 (1,1)
Genel Cerrahi	0 (0)	3 (3,3)	3 (3,3)
Göğüs Cerrahi	0 (0)	1 (1,1)	1 (1,1)

Toplam 74 tane idrar örneğinin 22'si (%24.2) erkeklerden, 52'si (%57.1) kadınlardan elde edildi. On yedi idrar dışı örneğin ise 8'i (%8.8) erkeklerden, 9'u (%9.9) kadınlardan elde edildi. Hem idrar hem de idrar dışı örnekler kadınlardan erkeklere göre daha fazla elde edilmesine rağmen cinsiyet ile örnek türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=0.17). Cinsiyet ile örnek türü arasındaki ilişki Tablo 5'te görülmektedir.

Tablo 5. Cinsiyet ve örnek türü arasındaki ilişki

		İdrar Örnekleri (s,%) (74,%81.3)	**İdrar Dışı Örnekler (s,%) (17,%18.7)**	**Toplam (s,%) (91,% 100)**	**p değeri**
Cinsiyet (s,%)	Erkek	22 (%24.2)	8 (%8.8)	30 (%33)	0.17*
	Kadın	52 (%57.1)	9 (%9.9)	61 (%67)	

* Pearson ki-kare testi

Çalışmaya dahil edilen 74 idrar örneğinin 51'i (%56) poliklinik hastalarından, 23'ü (%25.3) servis hastalarından elde edildi. 17 idrar dışı örneğin ise 5'i (%5.5) poliklinik hastalarından 12'si ise (%13.2) servis hastalarından elde edildi. Poliklinik ve servis hastalarında idrar ve idrar dışı örneklerin dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0.003). Tablo 6'da poliklinik ve servis hastalarında örnek dağılımı verilmektedir.

Tablo 6. Poliklinik ve servis hastalarında örnek dağılımı

		Poliklinik Hastaları (s,%) (56,%61.5)	**Servis Hastaları (s,%) (35,%39.5)**	**Toplam (s,%) (91,% 100)**	**p değeri**
Örnek Türü, (s,%)	İdrar	51 (%56)	23 (%25.3)	74 (%81.3)	0.003*
	İdrar Dışı	5 (%5.5)	12 (%13.2)	17 (%18.7)	

* Pearson ki-kare testi

4.2. Antimikrobiyal Test Sonuçları

Bu çalışmaya dahil edilen 91 *E. coli* suşunun antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile tespit edildi. Yetmiş dört idrar örneğinden elde edilen suşların ADT sonuçları Tablo 7'te görülmektedir.

Tablo 7. İdrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının antimikrobiyal test sonuçları

SUŞ NO	AMP	PİP	PİP/TZP	SAM	AMC	CXM	CAZ	CRO	CEP	FOX	AZT	İMP	MEM	TİG	GN	AK	CİP	F	SXT
MO1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO2	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
MO3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO8	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
MO9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO10	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO12	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO13	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO16	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
MO17	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	R
MO18	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	R
MO20	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R
MO23	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
MO24	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
MO25	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
MO26	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
MO27	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
MO29	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	R
MO30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO31	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	S
MO32	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO34	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	R
MO35	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO37	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
MO38	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO39	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

MO40	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO41	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO43	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO44	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S
MO45	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO46	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
MO50	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
MO51	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
MO53	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R
MO54	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
MO55	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO56	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
MO57	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	R
MO58	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO59	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R
MO60	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO61	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO63	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO64	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO66	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO67	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	R
MO68	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO69	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO70	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R
MO72	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
MO73	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
MO74	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
MO75	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S
MO76	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S
MO81	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO83	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
MO84	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
MO87	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	R
MO89	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO90	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
MO91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R
MO92	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R
MO93	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO95	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO96	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO98	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
MO101	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R

İdrar örneklerinden izole edilen suşların ADT verileri incelendiğinde en yüksek direnç 41 suş (%55.4) ile ampisilin ve 40 suş (%54.1) ile piperasilinde izlendi. Daha sonra trimetoprim/sülfametoksazol (27 / %36.5) ve siprofloksasinde (27 / %36.5) yüksek direnç oranları saptandı. İmipenem, meropenem, amikasin ve nitrofrontaine dirençli suşa rastlanmadı. Suşların ADT direnç sayı ve oranları Tablo 8'de verilmektedir.

Tablo 8. İdrar örneklerinden izole edilen dirençli *E. coli* suşlarının oranları

AMP	PİP	PİP/TZP	SAM	AMC	CXM	CAZ	CRO	FEP	FOX
s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)
41 / 55.4	40 / 54.1	8 / 10.9	21 / 28.4	24 / 32.4	26 / 35.1	24 / 32.4	24 / 32.4	24 / 32.4	0 / 0
AZT	İMP	MEM	TİG	GN	AK	CİP	F	SXT	
s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	s / (%)	
24 / 32.4	0 / 0	0 / 0	0 / 0	9 / 12.2	0 / 0	27 / 36.5	0 / 0	27 / 36.5	

On bir tanesi kan, 3 tanesi solunum yolu ve 3 tanesi yara/doku örneklerinden olmak üzere 17 tane idrar dışı örnekten izole edilmiş olan suşların ADT verileri Tablo 9'da verilmektedir.

Tablo 9. İdrar dışı örneklerden izole edilen *E. coli* suşlarının antimikrobiyal test sonuçları

SUŞ NO	ÖRNEK TÜRÜ	PİP	PİP/TZP	CAZ	CEP	FOX	İMP	MEM	TİG	GN	AK	CİP	SXT
MO7	KAN KX	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
MO36	BALGAM	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R
MO47	KAN KX	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
MO48	KAN KX	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S
MO62	KAN KX	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO65	KAN KX	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R
MO71	KAN KX	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
MO77	KAN KX	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO78	SAFRA KX	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S

MO79	TAK	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R
MO80	KAN KX	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO82	KAN KX	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S
MO85	BALGAM	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
MO86	KAN KX	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
MO88	ABSE KX.	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R
MO94	PÜY	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R
MO97	KAN KX	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R

İdrar dışı örneklerden izole edilen suşların ADT verileri incelendiğinde en yüksek direnç 14 suş (%82.4) ile piperasilinde daha sonra ise 10 suş (%58.8) ile seftazidimde görüldü. 9 suşta (%52,9) siprofloksasin direnci görüldü. İmipenem, meropenem ve amikasinde direnç görülmedi. İdrar dışı örneklerden izole edilmiş suşların ADT direnç sayı ve oranları Tablo 10'da verilmektedir.

Tablo 10. İdrar dışı örneklerden izole edilen *E. coli* suşlarının direnç oranları

PİP	PİP/TZP	CAZ	FEP	FOX	İMP
s/%	s/%	s/%	s/%	s/%	s/%
14 / 82.4	5 / 29.4	10 / 58.8	8 / 47.1	1 / 5.9	0 / 0
MEM	TİG	GN	AK	CİP	SXT
s/%	s/%	s/%	s/%	s/%	s/%
0 / 0	0 / 0	2 / 11.8	0 / 0	9/52.9	8/47.1

Elli altısı poliklinik ve 35 'i servis olmak üzere 91 hastandan alınan örnek sonuçları kinolon dirençleri yönünden incelendiğinde; toplamda 55 (%60.5) suşun siprofloksasin duyarlı olduğu ve bunların da 33'ünün (%36.3) poliklinik; 22'sinin (%24.2) servis hastası olduğu görüldü. 36 (%39.5) siprofloksasin dirençli suşun ise 23'ünün (%25.3) poliklinik; 13'ünün (%14.3) servis hastası olduğu görüldü. Siprofloksasin direnç durumu ile hasta yatış

durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (p=0.709). Hasta yatış durumu ve kinolon direnç durumu arasındaki ilişki Tablo 11'de verilmektedir.

Tablo 11. Hasta yatış durumu ve kinolon direnç durumu arasındaki

		Kinolon Duyarlı Suşlar (s,%) (n=55)	**Kinolon Dirençli Suşlar (s,%) (n=36)**	**Toplam (s,%) (n=91)**	**p değeri**
Birim, (s,%)	Poliklinik	33 (% 36.3)	23 (% 25.3)	56 (% 61.5)	0.709*
	Servis	22 (% 24.2)	13 (% 14.3)	35 (% 38.5)	

* Pearson ki-kare testi, ** Fisher Exact testi, SD: Standart sapma

4.3. Suşların Filogenetik Sınıflandırılması

Doksan bir suşta, çoklu PZR temelli yöntem ile *yjaA*, TSPE4.C2 ve *chuA* genleri bakıldı ve bu genlerin varlığına ve yokluğuna göre dikotomi (ikili karar ağacı) metodu kullanılarak filogenetik sınıflandırılması yapıldı. Bu sınıflandırmaya göre 91 suştan 56 tanesi (%61.5) D, 25 tanesi (%27.5) A ve 10 tanesi (%11) B1 gruplarına aitti. Çalışmamızda B2 grubuna ait suş bulunmadı. Suşların filogenetik dağılımları Tablo 12'de verilmektedir.

Tablo 12. Suşların dikotomi (ikili karar ağacı) metoduna göre filogenetik dağılımı

Suş No	*yjaA*	*chuA*	TSPE4.C2	Filogenetik Sınıf
MO1	+	-	-	A
MO2	-	+	-	D
MO3	-	-	+	B1
MO4	-	-	-	A

MO5	-	+	-	D
MO6	-	+	-	D
MO7	-	+	-	D
MO8	-	+	-	D
MO9	-	+	+	D
MO10	-	+	-	D
MO11	-	+	+	D
MO12	-	-	-	A
MO13	-	-	-	A
MO14	-	-	-	A
MO15	+	-	-	A
MO16	-	-	+	B1
MO17	+	-	-	A
MO18	-	+	+	D
MO20	-	+	+	D
MO23	-	+	+	D
MO24	-	+	+	D
MO25	-	+	+	D
MO26	-	+	-	D
MO27	-	+	-	D
MO29	-	-	-	A
MO30	-	+	-	D

MO31	-	-	+	B1
MO32	-	+	-	D
MO34	+	-	-	A
MO35	-	+	+	D
MO36	-	+	+	D
MO37	-	+	-	D
MO38	-	+	+	D
MO39	-	+	+	D
MO40	-	+	-	D
MO41	-	+	+	D
MO43	-	+	+	D
MO44	-	+	+	D
MO45	-	-	-	A
MO46	-	+	-	D
MO47	-	-	+	B1
MO48	-	+	+	D
MO50	-	+	+	D
MO51	-	+	-	D
MO53	-	-	+	B1
MO54	-	+	-	D
MO55	-	-	-	A
MO56	-	+	+	D

MO57	-	-	+	B1
MO58	-	-	+	B1
MO59	-	+	+	D
MO60	-	+	+	D
MO61	-	+	+	D
MO62	-	+	+	D
MO63	-	+	-	D
MO64	+	-	-	A
MO65	-	-	-	A
MO66	-	-	-	A
MO67	-	-	+	B1
MO68	-	+	+	D
MO69	-	-	-	A
MO70	-	-	-	A
MO71	-	+	-	D
MO72	-	+	-	D
MO73	-	+	-	D
MO74	-	+	-	D
MO75	-	-	+	B1
MO76	-	+	-	D
MO77	-	+	-	D
MO78	-	-	-	A

MO79	-	-	-	A
MO80	-	+	+	D
MO81	-	+	-	D
MO82	-	-	+	B1
MO83	-	+	-	D
MO84	+	-	-	A
MO85	-	+	-	D
MO86	-	+	-	D
MO87	+	-	-	A
MO88	-	+	-	D
MO89	-	+	-	D
MO90	-	+	-	D
MO91	-	-	-	A
MO92	+	-	-	A
MO93	-	-	-	A
MO94	-	+	+	D
MO95	-	+	-	D
MO96	-	-	-	A
MO97	-	+	-	D
MO98	-	-	-	A
MO101	-	+	-	D

4.4. Suşların Virülans Genleri

Doksan bir suşta, çoklu PZR temelli yöntem ile *sfa/focDE*, *hlyA* ve *cnf1* virülans genlerinin varlığı araştırıldı. Bu 91 suştan 12 tanesinde (%13.2) *sfa/focDE*, 2 tanesinde (%2.2) *hlyA* ve 2 tanesinde (%2.2) *cnf1* genleri saptandı. Tablo 13'de suşlar ve tespit edilen genler gösterilmiştir.

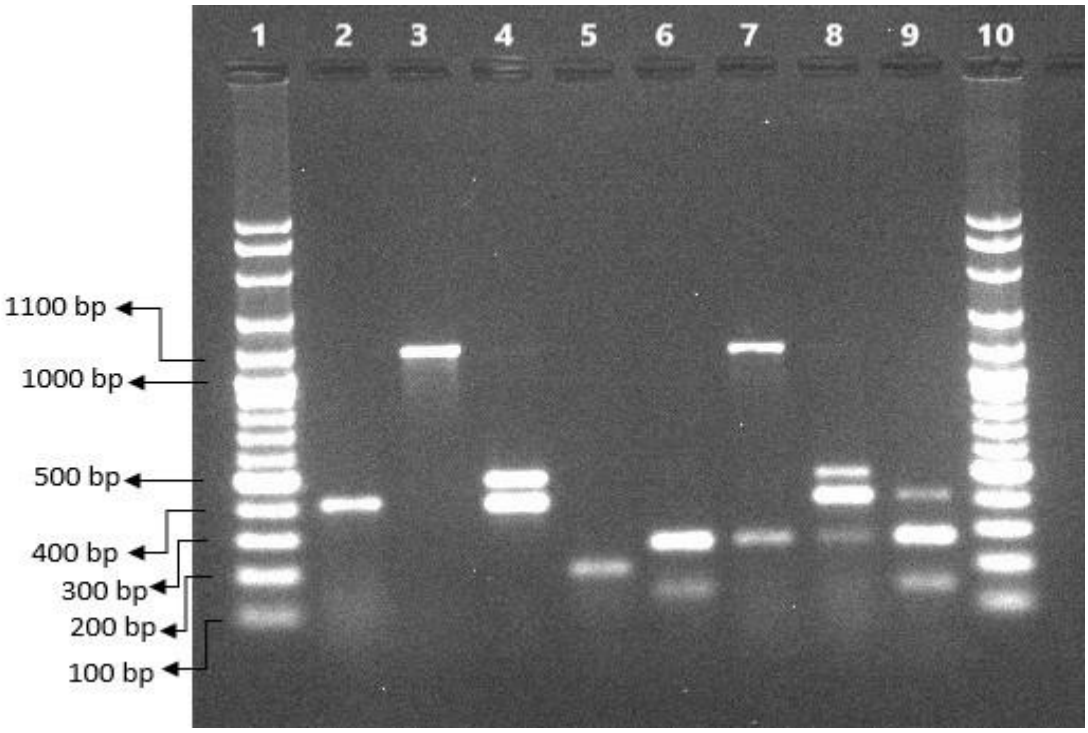
Tablo 13. Suşlar ve tespit edilen virülans genleri

Suş no	*sfa/focDE*	*hlyA*	*cnf1*
MO1	-	-	-
MO2	-	-	-
MO3	-	-	-
MO4	-	-	-
MO5	-	-	-
MO6	-	-	-
MO7	-	-	-
MO8	-	-	-
MO9	+	-	-
MO10	-	-	-
MO11	+	-	-
MO12	-	-	-
MO13	-	-	-
MO14	-	-	-
MO15	-	-	-
MO16	-	-	-
MO17	-	-	-
MO18	-	-	-
MO20	-	-	-
MO23	-	-	-
MO24	-	-	-
MO25	-	-	-
MO26	-	-	-
MO27	-	-	-
MO29	-	-	-
MO30	+	-	-
MO31	-	-	-
MO32	+	-	-
MO34	-	-	-

MO35	-	-	-
MO36	-	-	-
MO37	-	-	-
MO38	+	-	-
MO39	+	-	-
MO40	-	-	-
MO41	+	-	-
MO43	+	-	-
MO44	-	-	-
MO45	-	-	-
MO46	-	-	-
MO47	-	-	-
MO48	-	-	-
MO50	-	-	-
MO51	-	-	-
MO53	-	-	-
MO54	-	-	-
MO55	-	-	-
MO56	-	-	-
MO57	-	-	-
MO58	-	-	-
MO59	+	-	-
MO60	-	-	-
MO61	-	-	-
MO62	-	-	-
MO63	-	-	-
MO64	-	-	-
MO65	-	-	-
MO66	-	-	-
MO67	-	-	-
MO68	+	-	-
MO69	-	-	-
MO70	-	-	-
MO71	-	+	-
MO72	-	-	-
MO73	-	-	-
MO74	-	-	-
MO75	-	-	-
MO76	-	-	-
MO77	-	+	-
MO78	-	-	-

MO79	-	-	-
MO80	+	-	+
MO81	-	-	-
MO82	-	-	-
MO83	-	-	-
MO84	-	-	-
MO85	-	-	-
MO86	-	-	-
MO87	-	-	-
MO88	-	-	-
MO89	+	-	+
MO90	-	-	-
MO91	-	-	-
MO92	-	-	-
MO93	-	-	-
MO94	-	-	-
MO95	-	-	-
MO96	-	-	-
MO97	-	-	-
MO98	-	-	-
MO101	-	-	-

Genlerin agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 6'da gösterilmektedir.



Şekil 6: *E. coli* virülans genlerinin agaroz jel elektroforez analizi. 1: 100 bp DNA ladder (Vivantis). 2: *sfa/focDE* (410 bp) pozitif örnek. 3: *hlyA* (1177 bp) pozitif örnek. 4: *cnf1* (498 bp) ve *sfa/focDE* (410 bp) pozitif örnek. *5: yjaA* (211 bp) pozitif örnek. 6: *chuA (*279 bp) ve TSPE4.C2 (152 bp) pozitif örnek. 7: *hlyA* (1177 bp) *ve chuA (*279 bp) pozitif örnek. 8: *cnf1* (498 bp), *sfa/focDE* (410 bp) ve *chuA (*279 bp) pozitif örnek. 9: *sfa/focDE* (410 bp), *chuA (*279 bp) ve TSPE4.C2 (152 bp) pozitif örnek. 10: 100 bp DNA ladder (Vivantis).

4.5. Filogenetik Grup-Virülans Gen İlişkisi

Doksan bir suştan 12'sinde *sfa/focDE* geni saptanmış olup bu suşların tamamı D filogrubuna aitti ve aralarındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.01). *hlyA* ve *cnf1* genlerinin her ikisi de ikişer suşta saptandı. İki suş da D filogrubuna aitti ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (p=1). Filogenetik grup-virülans gen ilişkisi Tablo 14'te gösterilmektedir.

Tablo 14. Filogenetik Grup-Virülans Gen İlişkisi

	A (s,%) (25,%27.5)	**B1 (s,%) (10,%11)**	**D (s,%) (56,%61.5)**	**Toplam (s,%) (91,%100)**	**p değeri**
***sfa/focDE*, (s,%)**	0	0	12	12 (% 13.2)	0,01**
	25 (%27.5)	10 (%11)	44 (%48.4)	79 (% 86.8)	
***hlyA*, (s,%)**	0	0	2 (% 2.2)	2 (% 2.2)	1**
	25 (%27.5)	10 (%11)	54 (%59.3)	89 (%97.8)	
***cnf1*, (s,%)**	0	0	2 (%2.2)	2 (%2.2)	1**
	25 (%27.5)	10 (%11)	54 (%59.3)	89 (%97.8)	

** Fisher Exact testi

4.6. Filogenetik Grup ile Kinolon Direnci Arasındaki İlişki

Kinolon duyarlı 55 (%60.4) suşun 14'ü (%15.4) A, 2'si (%2.2) B1 ve 39'u (%42.9) D filogruplarına aitti. Kinolon dirençli 36 (%39.6) suşun ise, 11'i (%12.1) A, 8'i (%8.8) B1 ve 17'si (%18.7) D filogenetik gruplarına aitti. A grubunda kinolon duyarlı suşlar dirençlilere göre daha fazlaydı ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.594). B1 filogrubunda kinolon dirençli suşlar duyarlılara oranla fazlaydı ve aradaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.012). D grubunda ise kinolon duyarlı suşlar dirençlilere oranla fazla ve aradaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.023). Filogenetik sınıf-kinolon direnci arasındaki ilişki Tablo 15'te gösterilmektedir.

Tablo 15. Filogenetik sınıf ile kinolon direnci arasındaki ilişki

			Kinolon Duyarlı Suşlar (s,%) (55,%60.4)	**Kinolon Dirençli Suşlar (s,%) (36,%39.6)**	**Toplam (s,%) (91,%100)**	**p değeri**
Filogenetik (s,%)	**Sınıf**	A	14 (%15.4)	11 (%12.1)	25 (%27.5)	0.594*
		B1	2 (%2.2)	8 (%8.8)	10 (%11)	0.012**
		D	39 (%42.9)	17 (%18.7)	56 (%61.5)	0.023*

* Pearson ki-kare testi, ** Fisher Exact testi

4.7. Virülans Genleri İle Kinolon Direnci Arasındaki İlişki

Elli beş tane kinolon duyarlı klinik *E. coli* suşundan 11 tanesinde (%12.1) *sfa/focDE*, 2 tanesinde (%2.2) *hlyA* ve 2 tanesinde (%2.2) *cnf1* virülans genleri saptandı. 36 tane kinolon dirençli suşun ise 1 tanesinde (%3) *sfa/focDE* geni saptandı. *hlyA* ve *cnf1* virülans genleri saptanmadı. *Sfa/focDE* geni kinolon duyarlı suşlarda dirençlilere oranla daha fazla saptandı ve aralarındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.024). Ancak *hlyA* ve *cnf1* virülans genleri kinolon duyarlı suşlarda dirençlilere oranla daha fazla saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (iki gen için de p=0.516). Virülans genleri ile kinolon direnci arasındaki ilişkisi Tablo 16'da verilmektedir.

Tablo 16. Virülans genleri ile kinolon direnci arasındaki ilişkisi

	Kinolon Duyarlı Suşlar (s,%) (55,%60.4)	**Kinolon Dirençli Suşlar, (s,%) (36,%39.6)**	**Toplam (s,%) (91,%100)**	**p değeri**
***sfa/focDE*, (s,%)**	11(%12.1)	1(% 1.1)	12(%13.2)	0.024**
	44(%48.4)	35(%38.5)	79(%86.8)	
***hlyA*, (s,%)**	2(%2.2)	0	2(%2.2)	0.516**
	53(%58.2)	36(%39.6)	89(%97.8)	
***cnf1*, (s,%)**	2(%2.2)	0	2(%2.2)	0.516**
	53(%58.2)	36(%39.6)	89(%97.8)	

** Fisher Exact testi

5. TARTIŞMA

Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli*, dünya çapında idrar yolu ve kan dolaşımı enfeksiyonlarının önde gelen nedenlerinden biridir. Bu bakterilerin patojenitesi, çeşitli virülans belirleyicilerine bağlı olabilir. EksPEC'in halk sağlığı açısından önemi, farklı filogenetik gruplarda çoklu antimikrobiyal dirençlerin tanınmasından sonra artmıştır (Čurová vd., 2020). Bu çalışmada, filogenetik grup, antimikrobiyal direnç ve ekstraintestinal patogenezden sorumlu önemli virülans faktörlerinin belirlenmesi için kan, idrar, solunum ile deri ve yumuşak doku örneklerinden elde edilen 91 *E. coli* suşu incelendi. Bu örneklerin 74 tanesi idrar, 17 tanesi idrar dışıydı (11'i kan, 3'ü solunum yolu, 3'ü abse/doku örneği).

Kadınlardan elde edilen idrar örnekleri, erkeklere oranla daha fazlaydı. Kadın üretrasının daha kısa ve geniş olması, ayrıca fekal kontaminasyona daha açık olması nedeni ile İYE kadınlarda daha sık gözlendiği bilinmektedir (Dadi vd., 2020). Bulgularımız bu bilgi ile uyumluydu. İdrar dışı örneklerde ise kadın ve erkek örnek sayıları birbirine yakın bulundu (9 kadın-8 erkek).

Escherichia coli'nin virülans faktörlerine baktığımızda en önemli virülans faktörleri, yüzey virülans faktörleri olan adhezinlerdir (Özad Düzgün vd., 2019). Bu virülans faktörlerinden biri olan S fimbrialar organizmanın konakçı hücrelere kolonizasyonu ile ilişkili ana bağlanma faktörlerindendir (Rezatofighi vd., 2021). Ayrıca bu fimbrialar, beyin kılcal damar endotel hücreleri üzerindeki hücre dışı matris bileşenlerini ve sialoglikoproteinleri bağlama yeteneğine sahip olup menenjit ve sepsis patogenezinde de rol oynamaktadır (Sarowska vd., 2019).

İdrar yolu enfeksişyonlarının patogenezinde *E. coli* virülans faktörlerinin rolünü inceleyen bir çalışmada, *sfa/focDE* gen prevalansı %34 bulunmuştur. Benzer şekilde başka bir çalışmada UPEC suşlarında adhesin kodlayan genlerin prevalansı *focDE* için %16 ve *sfa* için %81 rapor edilmiştir (Sarowska vd., 2019)

Adib ve ark. 137 UPEC'li hasta örneklerini incelemiş ve bunların 49'unda (%36) *sfa/focDE* geninin varlığını saptamıştır. (Adib vd., 2014) Dadi ve ark. 200 idrar örneği incelemiş ve 25 tanesinde *sfa/focDE* geni saptamıştır (Dadi vd., 2020). Çin'de 188 suşla yapılan başka bir çalışmada ise % 8.1 bulunmuştur (Wang vd., 2014).

Bu çalışmada 91 suşun 12'sinde (%13,2),74 idrar örneğinin de 11'inde (%14.9) *sfa/focDE* geni saptanmış olup belirlenen en sık virülans geni oldu.

Adhezinlerin yanı sıra, bazı virülans genleri, α-hemolizin (*hlyA* geni), SNF1 (*cnf1* geni) ve sidoroforlar (*fyuA* geni) gibi toksinleri kodlar ki bunlar esas olarak hücre içi hayatta kalma, demir alımı, bağışıklık sisteminden kaçış gibi durumlarda rol oynarlar (Rezatofighi vd., 2021) Bunun yanında UPEC suşlarının üriner sistemdeki hücrelerin yayılması ve kalıcılığında rol oynayan SNF1 ürettiği bildirilmektedir (Lee vd., 2016) Ayrıca SNF1'in, UPEC ve SEPEC'in doku nekrozuna neden olduğu bilinmektedir (Sora vd., 2021).

Bu çalışmada *cnf1* geni 2 suşta (%2.2) saptanmış olup Etiyopya'da (%29) (Dadi vd., 2020) ve Çin'de (%7.1) (Wang vd., 2014) yapılan çalışmalarda saptanan oranlara göre daha az bulunmuştur.

Bozcal ve ark. tarafından 104 EksPEC suşu ile yapılan bir çalışmada ise *cnf1* 7 kişide (%7.2) bulunmuştur (Bozcal vd., 2018). Yine Türkiye'de 90 suş ile yapılan başka bir çalışmada ise *cnf1* %16.6 oranında saptanmıştır (Özad Düzgün vd., 2019).

Tunus'ta 90 UPEC suşu ile yapılan bir çalışma, bu çalışma ile benzer *cnf1* geni barındıran suş (3 suşta) saptamıştır (Tarchouna vd., 2013).

Escherichia coli suşlarında salgılanan α-hemolizin toksini, epitel bariyeri yoluyla bakteri istilasını teşvik eder (Lee vd., 2016; Raeispour & Ranjbar, 2018). Bu şekilde konak hücrelerinde hasar oluşturarak lizise neden olur (Sora vd., 2021). Hastalığın şiddetine katkıda bulunduğu ve bu organizmanın patojenitesinde yer aldığı bilinmektedir (Čurová vd., 2020).

Nepal'de 105 UPEC suşu ile yapılan bir çalışmada 34 (%32.3) suşta α-hemolizin üretimi saptandı (Shah vd., 2019). Raespour ve ark. yaptığı bir çalışmada ise 60 UPEC suşından 36'sında (%60) *hlyA* geni saptadı (Raeispour & Ranjbar, 2018). Bu çalışmalarda elde edilen *hlyA* gen oranları bizim çalışmamıza göre daha yüksekti (%2.2). Ancak İran'da 137 hasta örneği ile yapılan bir çalışmada bizim çalışmamızla benzer *hlyA* gen pozitifliği saptanmıştır (%2.2) (Adib vd., 2014).

Bin beş yüz on bir UPEC suşu incelenerek yapılan bir reviev ve meta-analizde ise 334 suşta (%22.1) *hlyA* gen pozitifliği saptanmıştır (Bunduki vd., 2021).

Özad Düzgün ve ark. tarafından 90 suş ile yapılan çalışmada ise bu çalışma ile benzer sonuçlar (%3.3) elde edilmiştir (Özad Düzgün vd., 2019).

Filogenetik bir teste dayalı olarak, *E. coli*, A, B1, B2 ve D olmak üzere dört ana filogenetik gruba ayrılmaktadır (Feng vd., 2017). İnsan EksPEC suşları genellikle daha virülan B2 ve D grubuna ait iken kommensal suşlar, daha az virülan kabul edilir ve A veya B1 gruplarına aittir (Čurová vd., 2020).

Hindistan'da UPEC suşları ile yapılan bir çalışmada baskın filogenetik grup %50.7 prevalans ile B2 bulunmuştur (Harwalkar vd., 2014) Yine Curova ve ark. 310 EksPEC suşu ile yaptığı çalışmada %62,3 B2, %8,4 B1, %10,6 A ve %18,7 D grubu saptamıştır. (Čurová

vd., 2020) İtalya'da 243 UPEC suşu ile yapılan başka bir çalışmada bu oran %56 (Piatti vd., 2008), Güney Kore'de çok daha az suşla (58 suş) yapılan bir çalışmada %79 (Lee vd., 2016), Etiyopya'da 200 suş ile yapılan bir başka çalışmada ise bu oran %30 bulunmuştur (Dadi vd., 2020)

Giray ve ark. 75 suş ile yaptığı bir çalışmada 31 (%41) suş B2 grubuna, 19 (%25) suş D grubuna, 20 (%27) A grubuna ve 5 suş (%7) B1'e ait bulmuştur (Giray vd., 2012).

Yine Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada 97 suş arasında en sık görülen grup 37 suşla (%38,14) D idi, bunu 29 suşla A (%29,89), 20 suşla B2 (%20,61) ve 11 suşla B1 (%11,34) izledi. En yaygın filogruplar D ve A idi (Bozcal vd., 2018).

Adip ve ark. 137 UPEC suşu ile yapmış olduğu bir çalışmada ise 63 suşun (%45.99) A , 18 suşun (%13.14) B1, 27 suşun (%19.71) B2 ve 29 suşun (%21.16) D filogenetik gruplarına ait olduğunu ortaya koymuştur (Adib vd., 2014). Diğer çalışmaların aksine en sık filogenetik grubu A olarak bulmuş ve bu durumun nedeninin; kolonun idrar yolu enfeksiyonları için ana rezervuar olabileceğinden kaynaklı olduğunu düşünmüşlerdir (Dadi vd., 2020).

Doksan bir suş ile yapılan bu çalışmada ise suşların 56'sı (%61.5) Grup D idi. Bunu 25 suş ile (%27.5) Grup A, 10 suş ile (%11) Grup D izledi. Beklenmedik bir şekilde bu çalışmada B2 grubuna ait suş bulunmadı.

Filogenetik grupların bu farklı prevalansı coğrafi çeşitlilikten, konakçı popülasyon özelliklerindeki farklılıklardan, metodoloji ve örneklem büyüklüğündeki farklılıklardan veya antimikrobiyal direnç gibi tür özelliklerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir (Kuntaman, 2005; Dadi vd., 2020).

Filogenetik grup ile virülans genlerinin ilişkisi incelendiğinde, bu çalışmada 12 suşta *sfa/focDE* geni saptanmış olup hepsi filogenetik grup D idi. D grubu ve *sfa/focDE* arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.01) 2 suşta *hlyA* ve *cnf1* geni saptandı ve gruplar ile bu genlerin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p=1)

Endonezya'da 394 fekal örnek ile yapılan bir çalışmadaki bulgular ise bizim çalışmamızın sonuçları ile uyuşmamakta ve bu suşların 8 tanesinde (%2) *sfa/focDE* geni saptanmış olup 61 D suşunun hiçbirinde pozitif değildi (Kuntaman, 2005).

Kore'de 58 suş ile yapılan bir çalışmada üropatojenik virülans faktörlerinin, A ve B1 ile karşılaştırıldığında D ve B2 gruplarında ağırlıklı olarak görülmüştür. Ayrıca en fazla buldukları virülans geni *sfa/focDE* olmuştur (Lee vd., 2016). Bu veriler çalışmamız ile uyumludur. Ancak *sfa/focDE* (58 / %100) hylA (36 / 62%) ve *cnf*I (38 / %65.5) gen oranları bize göre daha fazla bulunmuştur.

Bu çalışmada suşların 16'sında (%15.4) en az bir tane virülans geni saptanmıştır. Slovakya'da yapılan bir çalışmada bu oran daha yüksek (%36.4) bulunmuştur (Čurová vd., 2020). Ancak bu çalışmada bakılan gen sayısı (11 gen bakılmıştır) bizim çalışmamızdan fazladır. Bu durum aradaki farkı açıklayabilir. Bizim çalışmamızdan farklı olarak yine Curova ve ark. virülan suşların en fazla B2 filogrubuna ait olduğunu bulmuştur. Ancak bizim çalışmamızda B2 filogrup saptanmamıştır. D filogrubunun, A ve B1 grubuna göre daha virülan olduğunu bulmuşlardır. Bu veri bizim verilerimizle örtüşmektedir. Dadi ve ark. aynı şekilde B2 ve D filogrubunun, A ve B1'e göre daha virülan olduğunu bulmuştur (Dadi vd., 2020)

İran'da yapılan bir çalışmada 137 suşun 49 tanesinde *sfa/focDE* geni saptanmıştır ve A filogrubundaki gen sayısı B1 ve D grubuna göre fazladır (Adib vd., 2014). Bu sonuçlar bizim çalışmamızla örtüşmemektedir. Ancak 137 suşın 3 tanesinde *hlyA* (%2.2) saptanmış olup bizim verilerimizle örtüşmektedir.

Escherichia coli, günümüzde en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biri olan İYE'lerin %80-90'ının nedeni olarak kabul edilmektedir. Gereksiz antibiyotik kullanımı nedeniyle bakteri direnci artmıştır (Raeispour & Ranjbar, 2018) . DSÖ'nün 2014 tarihli bir raporunda, *E. coli*, farklı ortamlarda en yaygın enfeksiyonlara neden olan uluslararası öneme sahip ilk dokuz mikroorganizma listesine dahil edilmiştir (Sora vd., 2021). Dirençli bakteri kalıpları coğrafi konuma ve zamana göre değişmektedir, bu nedenle antibiyotik direncinin periyodik olarak test edilmesi önemlidir (Raeispour & Ranjbar, 2018) .

Bu çalışmada 74 UPEC suşu ile yapılan ADT sonuçları değerlendirildiğinde 41'inde (%55.4) ampisilin direnci saptandı. Bu oran Bozcal ve ark. (97 suştan 72'si (%74.22) ampisiline dirençliydi) ve Duan ve ark. (% 91.1) yaptığı çalışmaya göre düşük (Duan vd., 2020) , Shah ve ark. çalışmasında elde ettiği sonuçlara göre (%51) yüksekti (Shah vd., 2019). Giray ve ark. direnç oranı (%55) ile benzerlik gösterdi (Giray vd., 2012).

Çin'de % 91.1 ile (Duan vd., 2020), Türkiye'de %74.22 ile (Bozcal vd., 2018), Nepal'de %51 ile (Shah vd., 2019), Hindistan'da %83.2 ile (Harwalkar vd., 2014) ampisilin en yüksek dirence sahip antibiyotik bulunmuştur. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla örtüşmektedir. Ancak Özad ve ark. SXT'yi (%75.6) en direçli antibiyotik olarak saptamıştır (Özad Düzgün vd., 2019). Bu çalışmada SXT direnci idrar örneklerinde %36.5, idrar dışı örneklerde %47.1 saptanmış olup diğer çalışmalara göre daha düşük bir direnç oranı olduğu görüldü. Çin'de yapılan bir çalışmada SXT %70.7 (Duan vd., 2020), İran'da %54 (Raeispour & Ranjbar, 2018), Etiyopya'da yapılan başka bir çalışmada ise %68.5 saptandı (Adib vd., 2014).

Bu çalışmada 3. kuşak sefalosporinlere (seftriakson, seftazidim) %37.4 bulundu. Bu oran Hindistan'da seftazidim için %53.3 (Harwalkar vd., 2014), Çin'de seftriakson için %63.2 (Duan vd., 2020), İran'da seftriakson için %71.4 bulunmuştur (Raeispour & Ranjbar, 2018) Bu sonuçlar bizim sonuçlarımıza göre yüksektir. Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada ise seftriakson ve seftazidim oranları sırası ile %22.2 ve %21.1 bulunmuştur (Özad Düzgün vd., 2019) Bu oranlar bizim oranlarımıza göre düşüktür.

Çalışmamızda amikasin, meropenem ve imipeneme dirençli suş bulunmadı. Çin'de imipenem %2.3, meropenem %2.3 ve amikasin %6.2 oranlarında (Duan vd., 2020), Bunduki ve ark. imipenem için %0.7 (5/567) ve meropenem için %0.3 (1/354) (Bunduki vd., 2021) bulmuştur. Nepal'de yapılan bir çalışmada meropenem direnci %20 gibi görece yüksek bir oranda (Shah vd., 2019) bulunmuş, İran'da yapılan bir çalışmada ise imipenem dirençli suş bulunmamıştır (Raeispour & Ranjbar, 2018).

Bu çalışmada 74 idrar örneğinde 27 suşta (%36.5), 17 idrar dışı örneğin ise 9'unda (%52.9) siprofloksasin direnci saptandı. İdrar dışı örneklerde direnç oranı idrar örneklerine göre fazla olsa da aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.709). Tüm örneklere bakıldığında ise 36 suşta (%39.6) siprofloksasin direnci gözlenmiştir. Hindistan'da yapılan bir çalışmada suşların %49.2'si siprofloksasine dirençli bulunmuştur. (Harwalkar vd., 2014) Çin'de EksPEC suşları ile yapılan bir çalışmada daha yüksek bir oran (%71.7) saptanmıştır (Duan vd., 2020). Bozcal ve ark. bizim çalışmamıza göre daha düşük (%31.95) bir oranda saptamıştır (Bozcal vd., 2018). Yapılan bir meta-analizde oran bizim verilerimizden yüksek (%49.4), ancak idrar dışı örnek oranlarımızdan düşük bulunmuştur (Bunduki vd., 2021). 60

suş ile yapılan bir başka çalışmada kinolon direnç oranları bizim çalışmamıza kıyasla düşük (%34) bulunmuştur (Raeispour & Ranjbar, 2018).

Curova ve ark. yaptıkları çalışmada bizimle benzer kinolon direnci (%52.9) saptamışlardır (Čurová vd., 2020). Giray ve ark. Yetmiş beş suştan 35'ini (%47) siprofloksasin dirençli bulmuş (Giray vd., 2012), Özad ve ark. ise daha yüksek bir oran (%62.2) saptamıştır (Özad Düzgün vd., 2019).

Antibiyotik duyarlılık fenotiplerinin bir ülkeden diğerine ve hatta bir bölgeden diğerine değiştiği bilinmektedir (Giray vd., 2012). Farklı çalışmalarda görülen EksPEC suşlarının heterojenliği nedeniyle, burada gözlenen antibiyotik direnç dağılımı, bu suşlar arasında farklılaşabilmektedir (Bozcal vd., 2018).

Mevcut çalışmalarda bizim çalışmamızda olduğu gibi florokinolon direnci oldukça yaygındı. Florokinolonlar, üropatojenlerin tedavisinde kullanılan en önemli terapötik rejimlerden biridir. Bu nedenle, bu durum özellikle gelişmekte olan ülkelerde idrar yolu enfeksiyonlarından kaynaklanan suşlar arasında florokinolon direncinin yüksek prevalansını açıklayabilir.

Bu çalışmada en duyarlı antibiyotik grubu diğer çalışmalarda olduğu gibi karbapenemlerdir. Bu antibiyotikler, *E. coli*'nin neden olduğu İYE'nin tedavisi için iyi bir seçim gibi görünse de, bu antibiyotiklerin sınırsız kullanımının giderek artan antibiyotik direncine yol açabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. (Raeispour & Ranjbar, 2018)

Antibiyotik maruziyeti az olan sağlıklı konaklarda, antibiyotik direnci olsun ya da olmasın sağlam bir virülans faktörü repertuarı, bir patojenin bozulmamış konak savunmasının üstesinden gelmesi için gerekli olabilir. Tersine, pek çok antibiyotiğe maruz kalmış ve savunmaları zayıflamış olabilecek riskli konaklarda, antibiyotik direnci patojene önemli bir avantaj sağlayabilir (Harwalkar vd., 2014).

Virulans faktörlerinin anlaşılması, İYE'nin uygun şekilde yönetilmesine ve nihayetinde antimikrobiyal direncin önlenmesine kesinlikle yardımcı olur. (Shah vd., 2019)

İran'da yapılan bir çalışmada *hlyA* ve *cnf1* genlerinin düşük prevalansının siprofloksasine dirençli *E. coli* suşları ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu ($p < 0.05$) bulunmuştur (Harwalkar vd., 2014).

Endonezya'da 396 suş ile yapılan bir çalışmada *sfa/focDE* geninin florokinolon duyarlı suşlarda, dirençlilere oranla daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı (p=0.007) bulunmuştur (Kuntaman, 2005)

Yapılan başka bir çalışmada ise benzer şekilde kinolon direncinin, *cnf1*, *hlyA* ve *sfa/focDE* dahil olmak üzere üç virülans geninin prevalansında önemli ölçüde azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Harwalkar vd., 2014).

Nepal'de yapılan bir çalışmada ise bu çalışmaların aksine α-hemolizin üreten suşların üretmeyenlere kıyasla daha yüksek derecede direnç gösterdiği belirlenmiş olup virülans pozitif UPEC ve virülans negatif UPEC suşları arasındaki ÇİD karşılaştırması da istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar (%69'a karşı %16, P = 0.0001) vermiştir. Aynı çalışmada biyofilm üreten ve üretmeyen suşlar arasında da benzer direnç modeli gözlemlenmiştir (Shah vd., 2019).

Fransa'da 260 solunum yolu örneğinden izole edilen *E. coli*'ler ile yapılan bir çalışmada *sfa/focDE* ve *cnf1* virülans genlerinin ve antimikrobiyal ilaç direncinin her ikisinin de pnömoni suşlarında kommensal suşlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (la Combe vd., 2019)

Bu çalışmada saptanan 12 *sfa/focDE* geninden 11'i siprofloksasin duyarlıydı ve siprofloksasin duyarlılığı ile *sfa/focDE* geni arasındaki ilişki istatistiksel olarak (p=0.024) anlamlı idi. *hlyA* ve *cnf1* geninin bulunduran suşların hepsi kinolon duyarlıydı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=1). Bunun muhtemel nedeni bu virülans genlerini bulunduran suşların sayıca yetersizliğidir.

Direnç ve virülans arasındaki ilişki belirsizliğini korumaktadır ve suşun filogenetik grubu ile direnç determinantı tipi arasındaki etkileşime bağlıdır (Bunduki vd., 2021)

Bu çalışmalardan elde edilen sonuçların farklı olması virülans faktörleri ile antimikrobiyal direnç ilişkisinin bölgeden bölgeye farklılaşabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada kinolon duyarlılığı ile D filogrubu ve B1 filogrubu ile kinolon direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (sırasıyla p=0.012, p=0.023) Ancak A filogenetik grubunda kinolon dirençli suş sayısı duyarlılara göre fazla olmasına rağmen aralarındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.594).

Hindistan'da 197 suş ile yapılan bir çalışmada siprofloksasin dirençli suşların daha çok grup A ve B1'e ait olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada B1 suşlarında siprofloksasin direncinin daha fazla ve istatistiksel olarak anlamlı olması sonucu ile uyumluluk göstermekte ancak A filogrubundaki duyarlı suşların dirençlilere göre fazla bulunması ile uyumsuzluk göstermektedir. Çalışmada saptanan 3 tane D grubu suşunun ise 3'ünün de siprofloksasin duyarlığı olduğu bulunmuştur (Harwalkar vd., 2014) Suş sayısı az olmasına rağmen sonuçları bizim çalışmamızla benzerlik gösterdi.

İran'da yapılan çalışmada ise antibiyotiğe dirençli suşların ağırlıklı olarak A ve D filogenetik gruplarında olduğu bulunmuştur (Adib vd., 2014)

Giray ve ark. yapmış olduğu çalışmada ise elde ettikleri suşların filogenetik dağılımları ile tedavide yaygın olarak kullanılan siprofloksasin ve TMP-SMX arasındaki ilişkiyi incelemiş ve siprofloksasin direncinin büyük kısmının (%65) A grubu suşlarda olduğu bulunmuş ancak bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Giray vd., 2012).

Kore'de 58 UPEC suşu ile yapılan bir çalışmada ise bizim verilerimize zıt olarak B2 ve D gruplarında antibiyotik direnci yüksek bulunmuştur (Lee vd., 2016).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1) *Escherichia coli*, günümüzde en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Gereksiz antibiyotik kullanımı nedeniyle bakteri direnci artmıştır. Uygun antibiyotik kullanımı bunun önüne geçebilmektedir.

2) Dirençli bakteri kalıpları coğrafi konuma ve zamana göre değişmektedir, bu nedenle antibiyotik direncinin periyodik olarak test edilmesi önemlidir

3) Antibiyotik duyarlılık fenotiplerinin bir ülkeden diğerine ve hatta bir bölgeden diğerine değiştiği bilinmektedir. Farklı çalışmalarda görülen EksPEC suşlarının heterojenliği nedeniyle, burada gözlenen antibiyotik direnç dağılımı, bu suşlar arasında farklılaşabilmektedir

5) Bu çalışmada en duyarlı antibiyotik grubu diğer çalışmalarda olduğu gibi karbapenemlerdir. Bu antibiyotikler, *E. coli*'nin neden olduğu İYE'nin tedavisi için iyi bir seçim gibi görünse de, bu antibiyotiklerin uygunsuz kullanımının giderek artan antibiyotik direncine yol açabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. (Raeispour & Ranjbar, 2018)

4) Çalışmalarda filogenetik grupların farklı prevalansı gözlenmektedir. Bu durum coğrafi çeşitlilikten, konakçı popülasyon özelliklerindeki farklılıklardan ve örneklem büyüklüğündeki farklılıklardan veya antimikrobiyal direnç gibi tür özelliklerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir.

6) Virulans faktörlerinin anlaşılması, İYE'nin uygun şekilde yönetilmesine ve nihayetinde antimikrobiyal direncin önlenmesine kesinlikle yardımcı olur. (Shah vd., 2019)

7) Bu çalışmada B2 filogrubuna ait suş/ *hlyA* ve *cnf1* genlerini bulunduran suşlar diğer çalışmalarla kıyaslandığında bulunmamıştır/az bulunmuştur. Örneklem büyüklüğü arttırılarak popülasyon daha homojen temsil edilebilir.

8) Antimikrobiyal direnç/virülans potansiyeli ve filogenetik grup/ antimikrobiyal direnç arasındaki ilişki belirsizliğini korumaktadır ve ileride yapılacak çalışmalar bu konuya ışık tutabilecektir.

7. KAYNAKLAR

Abdel-Rhman, S. H., Elbargisy, R. M., & Rizk, D. E. (2021). Characterization of Integrons and Quinolone Resistance in Clinical Escherichia coli Isolates in Mansoura City, Egypt. *International Journal of Microbiology, 2021*. https://doi.org/10.1155/2021/6468942

Adib, N., Ghanbarpour, R., Solatzadeh, H., & Alizade. (2014). Antibiotic resistance profile and virulence genes of uropathogenic Escherichia coli isolates in relation to phylogeny. In *Tropical Biomedicine* (Vol. 31, Issue 1).

Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. In *Biochemistry* (Vol. 53, Issue 10, pp. 1565–1574). American Chemical Society. https://doi.org/10.1021/bi5000564

Aleksandrowicz, A., Khan, M. M., Sidorczuk, K., Noszka, M., & Kolenda, R. (2021). Whatever makes them stick – Adhesins of avian pathogenic Escherichia coli. In *Veterinary Microbiology* (Vol. 257). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109095

Alekshun, M. N., & Levy, S. B. (2007). Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell, 128*(6), 1037–1050. https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.03.004

Alfelali, M., Khandaker, G., Booy, R., & Rashid, H. (2016). Mismatching between circulating strains and vaccine strains of influenza: Effect on Hajj pilgrims from both hemispheres.

Human Vaccines and Immunotherapeutics, *12*(3), 709–715. https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1085144

Alizade, H. (2018). Escherichia coli in Iran: An Overview of Antibiotic Resistance: A Review Article. In *Iran J Public Health* (Vol. 47, Issue 1). http://ijph.tums.ac.ir

Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). Escherichia coli in Europe: An overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *10*(12), 6235–6254. https://doi.org/10.3390/ijerph10126235

Askari Badouei, M., Morabito, S., Najafifar, A., & Mazandarani, E. (2016). Molecular characterization of enterohemorrhagic Escherichia coli hemolysin gene (EHEC-hlyA)-harboring isolates from cattle reveals a diverse origin and hybrid diarrheagenic strains. *Infection, Genetics and Evolution*, *39*, 342–348. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.02.002

Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. and Struhl, K. (1994). Phylogenetic Characterization of BKH3 Bacterium Isolated from a Hot Spring Consortium of Bakreshwar (India) and Its Application

Belotindos, L., Villanueva, M., Miguel, J., Bwalya, P., Harada, T., Kawahara, R., Nakajima, C., Mingala, C., & Suzuki, Y. (2021). Prevalence and characterization of quinolone-resistance determinants in escherichia coli isolated from food-producing animals and animal-derived food in the Philippines. *Antibiotics*, *10*(4), 413. https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS10040413/S1

Bozcal, E., Eldem, V., Aydemir, S., & Skurnik, M. (2018). The relationship between phylogenetic classification, virulence and antibiotic resistance of extraintestinal pathogenic Escherichia coli in Izmir province, Turkey. *PeerJ*, *2018*(8). https://doi.org/10.7717/peerj.5470

Bunduki, G. K., Heinz, E., Phiri, V. S., Noah, P., Feasey, N., & Musaya, J. (2021). Virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic Escherichia coli (UPEC) isolated from urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, *21*(1). https://doi.org/10.1186/s12879-021-06435-7

Bush, N. G., Diez-Santos, I., Abbott, L. R., & Maxwell, A. (2020). Quinolones: Mechanism, lethality and their contributions to antibiotic resistance. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 23). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/molecules25235662

Carlini, F., Maroccia, Z., Fiorentini, C., Travaglione, S., & Fabbri, A. (2021). Effects of the escherichia coli bacterial toxin cytotoxic necrotizing factor 1 on different human and animal cells: A systematic review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 22). MDPI. https://doi.org/10.3390/ijms222212610

Choi, U., & Lee, C. R. (2019). Distinct Roles of Outer Membrane Porins in Antibiotic Resistance and Membrane Integrity in Escherichia coli. *Frontiers in Microbiology*, *10*(APR). https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00953

Clermont, O., Bonacorsi, P., & Bingen, E. (2000). Rapid and Simple Determination of the Escherichia coli Phylogenetic Group. In *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 66, Issue 10).

Čurová, K., Slebodníková, R., Kmeťová, M., Hrabovský, V., Maruniak, M., Liptáková, E., & Siegfried, L. (2020). Virulence, phylogenetic background and antimicrobial resistance in Escherichia coli associated with extraintestinal infections. *Journal of Infection and Public Health*, *13*(10), 1537–1543. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.06.032

Dadi, B. R., Abebe, T., Zhang, L., Mihret, A., Abebe, W., & Amogne, W. (2020). Distribution of virulence genes and phylogenetics of uropathogenic Escherichia coli among urinary tract infection patients in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, *20*(1). https://doi.org/10.1186/s12879-020-4844-z

Da Rocha, D. T., De Oliveira Salle, F., Borges, K. A., Furian, T. Q., Do Nascimento, V. P., De Souza Moraes, H. L., & Salle, C. T. P. (2021). Avian pathogenic Escherichia coli (APEC) and uropathogenic Escherichia coli (UPEC): Characterization and comparison. *Journal of Infection in Developing Countries*, *15*(7), 962–971. https://doi.org/10.3855/jidc.14217

Duan, Y., Gao, H., Zheng, L., Liu, S., Cao, Y., Zhu, S., Wu, Z., Ren, H., Mao, D., & Luo, Y. (2020). Antibiotic Resistance and Virulence of Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli (ExPEC) Vary According to Molecular Types. *Frontiers in Microbiology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.598305

EUCAST. (2023, February 24). *EUCAST breakpoint tables for bacteria*. https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents

Falbo, V., Pace, T., Picci, L., Pizzi, A., & Caprioli, A. (1993a). *Isolation and Nucleotide Sequence of the Gene Encoding Cytotoxic Necrotizing Factor 1 of Escherichia coli* (Vol. 61, Issue 11).

Fancher, C. A., Thames, H. T., Colvin, M. G., Smith, M., Easterling, A., Nuthalapati, N., Zhang, L., Kiess, A., Dinh, T. T. N., & Sukumaran, A. T. (2021). *Prevalence and Molecular Characteristics of Avian Pathogenic Escherichia coli in "No Antibiotics Ever" Broiler Farms*. https://www.nationalchickencouncil.org/

Fasugba, O., Gardner, A., Mitchell, B. G., & Mnatzaganian, G. (2015). Ciprofloxacin resistance in community- and hospital-acquired Escherichia coli urinary tract infections: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC Infectious Diseases*, *15*(1). https://doi.org/10.1186/s12879-015-1282-4

Feng, Y., Mannion, A., Madden, C. M., Swennes, A. G., Townes, C., Byrd, C., Marini, R. P., & Fox, J. G. (2017). Cytotoxic Escherichia coli strains encoding colibactin and cytotoxic necrotizing factor (CNF) colonize laboratory macaques. *Gut Pathogens*, *9*(1). https://doi.org/10.1186/s13099-017-0220-y

Fernández, L., & Hancock, R. E. W. (2012). Adaptive and mutational resistance: Role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, *25*(4), 661–681. https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12

Giray, B., Uçar, F. B., & Aydemir, S. Ş. (2012). Characterization of uropathogenic Escherichia coli strains obtained from urology outpatient clinic of Ege Medical Faculty in İzmir. *Turkish Journal of Medical Sciences*, *42*(SUPPL.1), 1328–1337. https://doi.org/10.3906/sag-1201-31

Harwalkar, A., Gupta, S., Rao, A., & Srinivasa, H. (2014). Lower prevalence of hlyD, papC and cnf-1 genes in ciprofloxacin-resistant uropathogenic Escherichia coli than their susceptible counterparts isolated from southern India. *Journal of Infection and Public Health*, *7*(5), 413–419. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2014.04.002

Johnson JR, Stell AL (2000). Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. The Journal of Infectious Diseases. 181: 261-72.

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic Escherichia coli. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 2, Issue 2, pp. 123–140). https://doi.org/10.1038/nrmicro818

Kimura, A. H., Koga, V. L., Luís, &, De Souza Gazal, E., Guimarães De Brito, B., Kelly, &, Tagliari De Brito, C., Navarro-Ocaña, A., Nakazato, G., Katsuko, R., & Kobayashi, T. (n.d.).

Characterization of multidrug-resistant avian pathogenic Escherichia coli: an outbreak in canaries. https://doi.org/10.1007/s42770-021-00443-0/Published

Kuntaman, K. (2005). Fluoroquinolone-resistant Escherichia coli, Indonesia. *Emerging Infectious Diseases*, *11*.

La Combe, B., Clermont, O., Messika, J., Eveillard, M., Kouatchet, A., Lasocki, S., Corvec, S., Lakhal, K., Billard-Pomares, T., Fernandes, R., Armand-Lefevre, L., Bourdon, S., Reignier, J., Fihman, V., de Prost, N., Bador, J., Goret, J., Wallet, F., Denamur, E., & Ricard, J. D. (2019). Pneumonia-specific escherichia coli with distinct phylogenetic and virulence profiles, France, 2012–2014. *Emerging Infectious Diseases*, *25*(4), 710–718. https://doi.org/10.3201/eid2504.180944

Law, D., & Chart, H. (1998). Enteroaggregative Escherichia coli. In *Journal of Applied Microbiology* (Vol. 84).

Lee, J. H., Subhadra, B., Son, Y. J., Kim, D. H., Park, H. S., Kim, J. M., Koo, S. H., Oh, M. H., Kim, H. J., & Choi, C. H. (2016). Phylogenetic group distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties of uropathogenic Escherichia coli strains isolated from patients with urinary tract infections in South Korea. *Letters in Applied Microbiology*, *62*(1), 84–90. https://doi.org/10.1111/lam.12517

Leimbach, A., Hacker, J., & Dobrindt, U. (2013). E. coli as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, *358*, 3–32. https://doi.org/10.1007/82_2012_303

Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A. V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., Reeves, P. R., Knirel, Y. A., Wang, L., & Widmalm, G. (2020). Structure and genetics of escherichia coli O antigens. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 44, Issue 6, pp. 655–683). Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028

Liu, Y., Zhu, M., Fu, X., Cai, J., Chen, S., Lin, Y., Jiang, N., Chen, S., & Lin, Z. (2021). Escherichia coli causing neonatal meningitis during 2001–2020: A study in eastern China. *International Journal of General Medicine*, *14*, 3007–3016. https://doi.org/10.2147/IJGM.S317299

Măciucă, A. M., Munteanu, A. C., & Uivarosi, V. (2020). Quinolone complexes with lanthanide ions: An insight into their analytical applications and biological activity. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 6). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/molecules25061347

Mainil, J. (2013). Escherichia coli virulence factors. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *152*(1–2), 2–12. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.09.032

Martinson, J. N. V., & Walk, S. T. (2020). Escherichia coli Residency in the Gut of Healthy Human Adults . *EcoSal Plus*, *9*(1). https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0003-2020

Ma, X., Zheng, B., Wang, J., Li, G., Cao, S., Wen, Y., Huang, X., Zuo, Z., Zhong, Z., & Gu, Y. (2021). Quinolone resistance of actinobacillus pleuropneumoniae revealed through genome and transcriptome analyses. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(18). https://doi.org/10.3390/ijms221810036

McCoy, C. S., Mannion, A. J., Feng, Y., Madden, C. M., Artim, S. C., Au, G. G., Dolan, M., Haupt, J. L., Burns, M. A., Sheh, A., & Fox, J. G. (2021). Cytotoxic Escherichia coli strains encoding colibactin, cytotoxic necrotizing factor, and cytolethal distending toxin colonize laboratory common marmosets (Callithrix jacchus). *Scientific Reports*, *11*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-020-80000-1

Menestrina G, Moser C, Pellet S, & Welch R. (1994). Pore-formation by Escherichia coli hemolysin (HlyA) and other members of the RTX toxins family. *Toxicology*, 249–267.

Michaud, J. E., Kim, K. S., Harty, W., Kasprenski, M., & Wang, M. H. (2017). Cytotoxic Necrotizing Factor-1 (CNF1) does not promote E. coli infection in a murine model of ascending pyelonephritis. *BMC Microbiology*, *17*(1). https://doi.org/10.1186/s12866-017-1036-0

Mol, N., Peng, L., Esnault, E., Quéré, P., Haagsman, H. P., & Veldhuizen, E. J. A. (2019). Avian pathogenic Escherichia coli infection of a chicken lung epithelial cell line. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *210*, 55–59. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2019.03.007

Moreno E, Planells I, Prats G, Planes AM, Moreno G, Andreu A (2005). Comparative study of *Escherichia coli* virulence determinants in strains causing urinary tract bacteremia versus strains causing pyelonephritis and other sources of bacteremia. Diagnostic Microbiology and Infectious

Nagy, G., Dobrindt, U., Kupfer, M., Emödy, L., Karch, H., & Hacker, J. (2001). Expression of hemin receptor molecule ChuA is influenced by RfaH in uropathogenic Escherichia coli strain 536. *Infection and Immunity*, *69*(3), 1924–1928. https://doi.org/10.1128/IAI.69.3.1924-1928.2001

Özad Düzgün, A., Okumuş, F., Saral, A., Çopur Çiçek, A., & Cinemre, S. (2019). Determination of antibiotic resistance genes and virulence factors in Escherichia coli isolated from Turkish patients with urinary tract infection. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *52*. https://doi.org/10.1590/0037-8682-0499-2018

Piatti, G., Mannini, A., Balistreri, M., & Schito, A. M. (2008). Virulence factors in urinary Escherichia coli strains: Phylogenetic background and quinolone and fluoroquinolone resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, *46*(2), 480–487. https://doi.org/10.1128/JCM.01488-07

Poolman, J. T., & Wacker, M. (2015). *Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli, a Common Human Pathogen: Challenges for Vaccine Development and Progress in the Field*. https://doi.org/10.1093/infdis/jiv429

Raeispour, M., & Ranjbar, R. (2018). Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of Uropathogenic Escherichia coli strains. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, *7*(1). https://doi.org/10.1186/s13756-018-0411-4

Rayasam, S. D. G., Ray, I., Smith, K. R., & Riley, L. W. (2019). Extraintestinal pathogenic Escherichia coli and antimicrobial drug resistance in a Maharashtrian drinking water system. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *100*(5), 1101–1104. https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0542

Rezatofighi, S. E., Mirzarazi, M., & Salehi, M. (2021). Virulence genes and phylogenetic groups of uropathogenic Escherichia coli isolates from patients with urinary tract infection and uninfected control subjects: a case-control study. *BMC Infectious Diseases*, *21*(1). https://doi.org/10.1186/s12879-021-06036-4

Riley, L. W. (2014). Pandemic lineages of extraintestinal pathogenic Escherichia coli. In *Clinical Microbiology and Infection* (Vol. 20, Issue 5, pp. 380–390). Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12646

Ruiz, J. (2019). *Transferable Mechanisms of Quinolone Resistance from 1998 Onward*. https://doi.org/10

Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic Escherichia coli isolated from different sources: Recent reports. In *Gut Pathogens* (Vol. 11, Issue 1). BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0

Shah, C., Baral, R., Bartaula, B., & Shrestha, L. B. (2019). Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. *BMC Microbiology*, *19*(1). https://doi.org/10.1186/s12866-019-1587-3

Skjøt-Rasmussen, L., Jakobsen, L., Olsen, S. S., Frimodt-Møller, N., & Hammerum, A. M. (2013). Unusual pathogenic B1 genotype (yjaA/TspE4.C2) detected among Escherichia coli from pig, chicken broiler meat and human extraintestinal infection. In *Journal of Medical Microbiology* (Vol. 62, Issue PART8, pp. 1259–1262). https://doi.org/10.1099/jmm.0.055178-0

Sora, V. M., Meroni, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L., & Zecconi, A. (2021). Extraintestinal pathogenic escherichia coli: Virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens*, *10*(11). https://doi.org/10.3390/pathogens10111355

Tarchouna, M., Ferjani, A., Ben-Selma, W., & Boukadida, J. (2013). Distribution of uropathogenic virulence genes in Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection. *International Journal of Infectious Diseases*, *17*(6). https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.01.025

Tibo, L. H. S., Bertol, J. W., Bernedo-Navarro, R. A., & Yano, T. (2016). Cytotoxic factor secreted by Escherichia coli associated with sepsis facilitates transcytosis through human umbilical vein endothelial cell monolayers. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, *20*(3), 298–302. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2016.01.003

Torres, A. G., & Payne, S. M. (n.d.). *Haem iron-transport system in enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7*.

Uncomplicated and complicated cystitis and asymptomatic bacteriuria possess similar phylogenies, virulence genes, and O-serogroup profiles. Journal of Clinical Microbiology. 44 (12): 4589-92

Vissing, N. H., Mønster, M. B., Nordly, S., Dayani, G. K., Heedegaard, S. S., Knudsen, J. D., & Nygaard, U. (2021). Relapse of neonatal escherichia coli meningitis: Did we miss something at first? *Children*, *8*(2). https://doi.org/10.3390/children8020126

Wang, P., Zhang, J., Chen, Y., Zhong, H., Wang, H., Li, J., Zhu, G., Xia, P., Cui, L., Li, J., Dong, J., Gao, Q., & Meng, X. (2021). Colibactin in avian pathogenic Escherichia coli contributes to the development of meningitis in a mouse model. *Virulence*, *12*(1), 2382–2399. https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1972538

Wasiński, B. (2019a). Extra-intestinal pathogenic escherichia coli – threat connected with food-borne infections. In *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (Vol. 26, Issue 4, pp. 532–537). Institute of Agricultural Medicine. https://doi.org/10.26444/aaem/111724

Zalewska-Piątek B. (2011). Urinary Tract Infections of Escherichia coli Strains of Chaperone-Usher System, Polish Journal of Microbiology 2011, Vol. 60, No 4, 279–285.

Zhao, W. D., Liu, D. X., Wei, J. Y., Miao, Z. W., Zhang, K., Su, Z. K., Zhang, X. W., Li, Q., Fang, W. G., Qin, X. X., Shang, D. S., Li, B., Li, Q. C., Cao, L., Kim, K. S., & Chen, Y. H. (2018). Caspr1 is a host receptor for meningitis-causing Escherichia coli. *Nature Communications*, *9*(1). https://doi.org/10.1038/s41467-018-04637-3

Zhu, D. M., Li, Q. H., Shen, Y., & Zhang, Q. (2020). Risk factors for quinolone-resistant Escherichia coli infection: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, *9*(1). https://doi.org/10.1186/S13756-019-0675-3