

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İDRAR YOLU ENFEKSİYONU ETKENİ OLAN *ESCHERICHIA COLI*
İZOLATLARINDA ADEZİN GENLERİNİN FİLOGENETİK
GRUPLAR VE ANTİBİYOTİK DİRENCİ İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doğanhan Kadir ER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ

2013

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İDRAR YOLU ENFEKSİYONU ETKENİ OLAN *ESCHERICHIA COLI*
İZOLATLARINDA ADEZİN GENLERİNİN FİLOGENETİK
GRUPLAR VE ANTİBİYOTİK DİRENCİ İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doğanhan Kadir ER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. Devrim DÜNDAR

Destekleyen Kurum: Kocaeli Üniversitesi BAP yüksek lisans destek programı

Proje No: HDP/95

KOCAELİ

2013

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkeni Olan *Escherichia coli* İzolatlarında Adezin Genlerinin Filogenetik Gruplar ve Antibiyotik Direnci ile İlişkisinin Araştırılması

Tez Yazarı: Doğanhan Kadir ER

Tez Savunma Tarihi: 01. 08. 2013

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Devrim DÜNDAR

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN:	Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ	
ÜYE (DANIŞMAN):	Doç. Dr. Devrim DÜNDAR	
ÜYE:	Doç. Dr. Dilek ŞATANA	

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../ .../ 2013

Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK

Enstitü Müdürü

ÖZET

Üriner sistem enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan etken *Escherichia coli*' dir. Organizmanın sahip olduğu adezin virülans faktörleri, enfeksiyon gelişmesinde önemli rol oynamaktadır.

Üriner sistem enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen 146 *Escherichia coli* izolatının ait oldukları filogenetik gruplar ve adezin virülans genleri Çoklu Polimeraz Zincirleme Tepkimesi yöntemleriyle incelenmiş; sonuçlar hasta profili ve antibiyotik direnci ile karşılaştırılmıştır. Hasta profilleri hastane ve toplum kökenli, sistit ve piyelonefrit, komplike ve komplike olmayan şekilde ayrılmıştır. Toplam 16 antibiyotik ve 8 adezin virülans geni karşılaştırmalarda kullanılmıştır.

B2 grubu, en sık karşılaşılan filogenetik grup olmuştur. *fimH* geni en çok karşılaşılan, *bmaE* geni ise en az karşılaşılan ürovirülans genidir. *papAH* geninin cinsiyetle ve yaşla; *iha* geninin ise hastane enfeksiyonlarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. *sfa/focDE*, *papAH*, *fimH* ve *focG* genleri çeşitli antibiyotiklere duyarlı izolatlarda daha sık; *iha* ve *afa/draBC* genleri ise daha az belirlenmiştir.

Bu çalışma, bildiğimiz kadarıyla ülkemizde adezin virülans genlerinin antibiyotik direnci ile ilişkisini inceleyen en kapsamlı çalışmadır.

Virülans özelliklerinin detaylı olarak incelenmesi sayesinde gelecekte patojenlere karşı önleyici ve tedavi edici yaklaşımlar geliştirilebilir.

Anahtar Sözcükler: Üriner Sistem Enfeksiyonları, *E. coli* Adezin, Adezin Virülans Genleri, Antibiyotik Direnci

ABSTRACT

Escherichia coli is the most common agent of urinary tract infections. Adhesin virulence factors which the organism have, play a major role in the development of infection.

Among 146 urinary tract infection isolates of *Escherichia coli*, phylogenetic groups and adhesin genes were examined with multiplex PCR methods; and the results compared with patient profile and antibiotic resistance. Patient profiles divided into cystitis and pyelonephritis; community acquired and health care associated acquired; complicated and uncomplicated. Total 8 adhesin gene and 16 antibiotics were used for comparison.

The most prevalent phylogenetic group was B2. Among the virulence genes, *fimH* was the most frequent and *bmaE* was the least frequent urovirulence gene. *papAH* was related to age and gender; *iha* was related to health care associated acquired infections. *sfa/focDE*, *papAH*, *fimH* and *focG* were significantly less frequent among resistant isolates; *iha* and *afa/draBC* were significantly more frequent.

To the best of our knowledge, this study is the most comprehensive report from Turkey on the antibiotic resistance were examined in terms of adhesin genes.

In the future, through a detailed analyze of the virulence properties, preventive and therapeutic approaches can be developed against pathogens.

Key Words: Urinary Tract Infection, *E. coli* Adhesins, Adhesin Virulence Genes, Antibiotic Resistance

TEŞEKKÜR

Danışman hocam Sayın Doç. Dr. Devrim DÜNDAR' a bana bu değerli çalışmada bulunma fırsatı verdiği için minnettarım. Yüksek lisans öğrenimimde çok emeği geçen bu değerli insanın araştırmacılığı, yüksek analiz yeteneği ve hiçbir zaman esirgemediği desteği bu tez çalışmasının tamamlanmasında büyük rol oynamıştır.

Sayın Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ, Doç. Dr. Fatma BUDAK, Doç. Dr. Sema Keçeli ÖZCAN, Doç. Dr. Zeki YUMUK, Doç. Dr. Gülden Sönmez TAMER ve Yard. Doç. Dr. Erdener BALIKÇI' ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Sayın Prof. Dr. Fetiye KOLAYLI' ya her türlü desteği, paylaşımcılığı ve motive edici yaklaşımından dolayı çok teşekkür ederim.

Sayın Prof. Dr. Nilay ETİLER' e istatistiksel analiz konusundaki desteği ve önerileri için teşekkür ederim.

Laboratuvar arkadaşlarım Araş. Gör. Hüseyin UZUNER, Leyla ÖZDEMİR, Agim OSMANİ ve Araş. Gör. Serpil METİN' e tükenmeyen enerjileri ve sonsuz destekleri için teşekkür ederim.

Minnesota Üniversitesi Gazi İşleri Moleküler Epidemiyoloji Ünitesi Direktörü Sayın Prof. Dr. James R. JOHNSON ve asistanı Dr. Brian JOHNSTON' a önerileri ve gönderdikleri pozitif kontrollerden dolayı teşekkür ederim.

Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Fusun Bahriye UÇAR ve doktora öğrencisi Betül GİRAY' a filogenetik gruplama hakkındaki önerilerinden dolayı teşekkür ederim.

Annem Pervin, babam Ünsel, ağabeyim Boğaç Han ER ve Merve Sefa SARNILIOĞLU' na desteklerinden, anlayışlarından ve sevgilerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2. 1. <i>Escherichia coli</i> Türünün Genel Özellikleri	2
2. 1. 1. Biyokimyasal Testler	2
2. 1. 2. <i>E. coli</i> Patotipleri	4
2. 1. 2. 1. Kommensal <i>E. coli</i>	5
2. 1. 2. 2. Diyarejenik <i>E. coli</i>	6
2. 1. 2. 3. Ekstraintestinal <i>E. coli</i>	6
2. 1. 2. 4. ExPEC Virülans Faktörleri	7
2. 1. 3. <i>E. coli</i> Filogenetik Grupları	11
2. 2. Üriner Sistem Enfeksiyonları	12
2. 2. 1. ÜSE' nin Sınıflaması	12
2. 2. 2. Patojenez	14
2. 2. 3. Nozokomiyal ÜSE	17
3. GEREÇ – YÖNTEM	18
3. 1. Araştırma Popülasyonu	18
3. 2. Etik Kurul Onayı	18
3. 3. Hasta Bilgi Formu	18
3. 4. Besiyerlerinin, Ayraçların ve Tampon Çözeltilerin Hazırlanması	21
3. 4. 1. Eozin – Metilen Mavili (EMB) Agar	21
3. 4. 2. Gliserol (%15) İçeren Triptik Soy Buyyon (TSB)	21
3. 4. 3. Luria – Bertani (LB) Buyyon	21
3. 4. 4. Mueller – Hinton Agar (MHA)	21
3. 4. 5. Mueller – Hinton Buyyon (MHB)	22
3. 4. 6. Üç Şekerli Besiyeri	22

3. 4. 7. Sülfite – İndol – Hareket Besiyeri	22
3. 4. 8. Metil Kırmızısı – Voges Proskauer Besiyeri.....	22
3. 4. 9. Simmons Sitrat Agar	23
3. 4. 10. Lizin – Demir Agar	23
3. 4. 11. Üreaz Besiyeri	23
3. 4. 12. Tampon Çözeltilerin ve Reaktiflerin Hazırlanması	23
3. 5. Örnek Seçimi	24
3. 6. Saklamadan Çıkarılan Örneklerin Çalışılması.....	25
3. 6. 1. Tanımlamada Kullanılan Biyokimyasal Testler.....	25
3. 6. 1. 1. Üç Şeker Testi	25
3. 6. 1. 2. İndol ve Hareket Testi	26
3. 6. 1. 3. Metil Kırmızısı Testi	26
3. 6. 1. 4. Voges – Proskauer Testi	26
3. 6. 1. 5. Sitrat Kullanım Testi	27
3. 6. 1. 6. Üreaz Testi.....	27
3. 6. 1. 7. Lizin Dekarboksilaz Testi.....	27
3. 6. 2. Deoksiribonükleik Asit İzolasyonu	28
3. 6. 3. Antimikrobiyal Duyarlılıkların Belirlenmesi	29
3. 6. 4. Filogenetik Grupların Belirlenmesi.....	31
3. 6. 5. Adezin Virülans Genlerinin Belirlenmesi	35
3. 6. 6. İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
4. 1. Hasta Verileri	39
4. 2. Filogenetik Gruplama	41
4. 3. Virülans Genleri.....	43
4. 4. Virülans Skoru	46
4. 5. Antibiyotik Dirençleri.....	46
4. 6. Hasta Verileri ile Virülans Genlerinin Karşılaştırılması.....	49
4. 7. Antibiyotik Direnci ile Virülans Genlerinin Karşılaştırılması.....	52
4. 8. Filogenetik Gruplar ile Virülans Genlerinin Karşılaştırılması	57
4. 9. Antibiyotik Direnci ile Filogenetik Grupların Karşılaştırılması	59
4. 10. Virülans Skorları ile Yapılan Karşılaştırmalar	62
4. 11. Çoklu Direnç ile Yapılan Karşılaştırmalar	65

5. TARTIŞMA.....	69
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	78
7. EKLER	79
8. KAYNAKÇA	80
9. ÖZGEÇMİŞ.....	89

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

dH ₂ O	: Saf Su
LB Buyyon	: Luria – Bertani Buyyon
EMB Agar	: Eosine Methylene Blue Agar
KKA	: Koyun Kanlı Agar
T _m	: Erime Sıcaklığı
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
KOÜ KAEK	: Kocaeli Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
PZT	: Polimeraz Zincirleme Tepkimesi
CFU	: Koloni Oluşturan Birim
BaSO ₄	: Baryum Sülfat
BaCl ₂	: Baryum Klorid
H ₂ SO ₄	: Sülfürik Asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
TBE	: Tris base – Borik Asit – Etilendiamintetraasetik Asit
NaOH	: Sodyum Hidroksit
bç	: Baz Çifti
CO ₂	: Karbon Dioksit
H ₂ S	: Hidrojen Sülfür
ÜSE	: Üriner Sistem Enfeksiyonu
MLEE	: Multilokus Enzim Elektroforezi
PA	: Patojenite adacıkları
tRNA	: Taşıyıcı Ribonükleik Asit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
AMC	: Amoksisilin/ Klavulonik Asit
SXT	: Trimetoprim/ Sulfametoksazol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. P fimbria (<i>pap</i>); tip 1 fimbria (<i>fim</i>); F1C fimbria (<i>foc</i>) ve S fimbria (<i>sfa</i>)' yı kodlayan gen kümelerinin fiziksel ve genetik haritası.....	10
Şekil 2. 2. ÜSE' nda asendan yol basamakları.....	16
Şekil 3. 1. Dikotomöz karar ağacı.....	31
Şekil 4. 1. Hastaların yaşı için oluşturulan histogram.....	40
Şekil 4. 2. Filogenetik gruplara ait pasta grafik.....	42
Şekil 4. 3. Filogenetik gruplamada belirlenen grupların jel görüntüsü.....	42
Şekil 4. 4. Virülans genlerine ait jel görüntüleri.....	44
Şekil 4. 5. Örnek disk difüzyon görüntüsü.....	48
Şekil 4. 6. Cinsiyet ile virülans skorunun karşılaştırması.....	62
Şekil 4. 7. Gentamisin duyarlı ve dirençli izolatların virülans skorlarının karşılaştırılması.....	63
Şekil 4. 8. Filogenetik grup ile virülans skorunun karşılaştırması	65
Şekil 4. 9. Çoklu direnç ile virülans skorunun karşılaştırması.....	66

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Diyarejenik <i>E. coli</i> epidemiyolojisi, klinik özellikleri, patojenitesi ve tanısı	7
Çizelge 2. 2. UPEC için tanımlanan bazı virülans faktörleri ve kodlandığı bölge.....	8
Çizelge 2. 3. Bazı adezinlerin bağlandığı reseptörler.....	9
Çizelge 2. 4. <i>E. coli</i> adezinlerinin böbrek, mesane ve idrardaki epitel hücrelerine bağlanması.....	10
Çizelge 2. 5. Bazı virülans genleri ve virülanstaki rolleri.....	11
Çizelge 2. 6. ÜSE sınıflaması.....	14
Çizelge 3. 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu.....	19
Çizelge 3. 2. Hasta Bilgilendirme Formu.....	20
Çizelge 3. 3. Tampon çözeltilerin ve reaktiflerin hazırlanması.....	24
Çizelge 3. 4. <i>E. coli</i> tanımlamasında kullanılan çeşitli biyokimyasal testler ve görülme sıklıkları.....	27
Çizelge 3. 5. Testlerde kullanılan pozitif ve negatif kontroller.....	28
Çizelge 3. 6. Çalışılan antibiyotiklere ait veriler.....	30
Çizelge 3. 7. Genlere göre filogenetik gruplama.....	32
Çizelge 3. 8. Primer dizileri, moleküler ağırlıkları ve kaynakları.....	32
Çizelge 3. 9. Filogenetik gruplama için yapılan PZT' de kullanılan konsantrasyonlar.....	33
Çizelge 3. 10. Filogenetik gruplama için yapılan PZT' de bir ve 50 örnek için gerekli reaktifler.....	33
Çizelge 3. 11. Virülans genlerinin belirlenmesi için yapılan PZT' de kullanılan primer dizileri, Tm değerleri ve moleküler ağırlıkları	36

Çizelge 3. 12 Virülans genlerinin belirlenmesi için yapılan PZT’ de kullanılan konsantrasyonlar.....	36
Çizelge 3. 13. Virülans genleri tayini için yapılan PZT’ de bir ve 50 örnek için gerekli reaktifler.....	37
Çizelge 3. 14. Virülans genleri için yapılan PZT için tepkime döngüleri.....	38
Çizelge 4. 1. Hasta verilerinin cinsiyete göre dağılımı.....	41
Çizelge 4. 2. Genler ve filogenetik grup oranları.....	41
Çizelge 4. 3. Virülans genlerinin görülme sıklığı.....	43
Çizelge 4. 4. Virülans genlerinin birbirleri ile ilişkileri.....	45
Çizelge 4. 5. Virülans skorlarına ait frekanslar.....	46
Çizelge 4. 6. Antibiyotik dirençlerinin sıklığı ve dirençli örneklerin enfeksiyonun kökenine göre sayısı.....	47
Çizelge 4. 7. Yaş ile virülans genlerinin karşılaştırması.....	50
Çizelge 4. 8. Hasta verileri ile virülans genlerinin karşılaştırması.....	51
Çizelge 4. 9. Antibiyotik dirençleri ile virülans genlerinin karşılaştırılması.....	55
Çizelge 4. 10. Filogenetik gruplar ile virülans genlerinin karşılaştırılması.....	58
Çizelge 4. 11. Antibiyotik direnciyle filogenetik grupların karşılaştırması.....	60
Çizelge 4. 12. Cinsiyet ile virülans skorunun karşılaştırılması.....	62
Çizelge 4. 13. Gentamisin ile virülans skorunun karşılaştırılması.....	63
Çizelge 4. 14. Filogenetik gruplar ile virülans geni skorlarının karşılaştırılması.....	64
Çizelge 4. 15. Çoklu direnç ile virülans skorunun karşılaştırılması.....	65
Çizelge 4. 16. Çoklu direnç ile virülans genlerinin karşılaştırılması.....	68
Çizelge 4. 17. Çoklu direnç ile filogenetik grupların karşılaştırılması.....	68

1. GİRİŞ

Üriner Sistem Enfeksiyonları (ÜSE), toplum üzerinde önemli bir mali yükü olan, yüksek morbiditeye sahip ve en yaygın enfeksiyonlar arasındadır (Foxman, 2002). Dünya genelinde, her yıl 150 milyon kişiye ÜSE tanısı konmaktadır; dünya ekonomisine maliyeti ise 6 milyar Amerikan Doları' nın üzerindedir (Gonzalez and Schaeffer, 1999).

Kadınlar, erkeklere oranla daha fazla ÜSE geçirmektedirler; 24 yaşına kadar yaklaşık 3 kadından 1' i antibiyoterapi gerektiren en az bir ÜSE ile karşılaşmaktadır (Foxman, 2002).

ÜSE' de en sık izole edilen bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*)' dir; yaklaşık olarak %70 – 90 oranında izole edilmektedir. Ayrıca, tüm hastane kökenli ÜSE içerisinde yaklaşık olarak %40 oranıyla en sık izole edilen bakterilerden biridir (Brzuszkiewicz et al., 2006).

E. coli, çeşitli virülans faktörlerine sahiptir; bu faktörler adezinler, toksinler, sideroforlar, kapsül tipleri ve muhtelif faktörler başlıkları altında toplanmaktadır.

Virülans faktörlerinden en önemlisi ise adezinler olarak görülmektedir; bunun nedeni, ÜSE' de bakterilerin tutunmasının kolonizasyon ve enfeksiyon için gerekli olmasıdır.

Patojenlerin virülans faktörlerinin epidemiyolojik olarak araştırılması, son yıllarda artan bir öneme sahiptir. Moleküler epidemiyoloji vasıtasıyla virülans faktörlerinin kodlanmasını sağlayan genlerinin sıklığı belirlenebilmektedir; bu sayede, enfeksiyonu engellemek için virülans faktörleri ile ilgili müdahalelerde bulunulabilir (Johnson, 1991; Johnson and Russo, 2005).

E. coli' ye bağlı ÜSE' nin engellenmesi veya tedavisi için çeşitli çalışmalar mevcuttur. Adezinlere karşı aşı oluşturma (Asadi Karam et al., 2013; Clatworthy et al., 2007; Langermann et al., 2000) veya bir kökeni profilaksi amacı ile kullanma (Hull et al., 2000) gibi konularda yapılan çalışmalar, örnek olarak gösterilebilir.

Bu tezin amacı, *E. coli*' ye bağlı ÜSE geçiren hastalardan elde edilen izolatların adezin virülans genlerinin sıklığının; filogenetik gruplarla, antibiyotik direnciyle ve enfeksiyonun yeri, kökeni gibi belirteçlerle ilişkisinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. *Escherichia coli* Türünün Genel Özellikleri

Escherichia, *Bacteria* domanine, *Proteobacteria* filumuna, *Gammaproteobacteria* sınıfına, *Enterobacteriales* takımına, *Enterobacteriaceae* ailesine ait bir bakteri cinsidir. Cins, yeni doğan fekal mikrobiyotası ile ilgili öncü çalışmaları olan ve *Escherichia coli* (*E. coli*) türünü 1885 yılında tanımlayan Theodore Escherich' in adı verilmiştir. Cinsin prototipi, *E. coli* türüdür. *E. coli*, Gram negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob, katalaz pozitif ve oksidaz negatif özellik gösteren bir basildir. Genellikle hareketli, ortalama 2 – 6 µm boyunda, 1µm enindedir. (Sobel and Kaye, 2009).

Aerobik koşullarda ekildiğinde, 37 °C' de genel kullanım besiyerlerinde rahatlıkla çoğalmaktadır. Koyun kanlı besiyerinde geniş, düz ve gri koloniler oluşturmaktadır (Forbes et al., 2007).

E. coli hem gastrointestinal sistemde bulunan fakültatif anaeroblar içerisinde hem de patojen enterik bakteriler arasında en çok karşılaşılan türdür. Ailedeki diğer üyelerden, çoğu kökenin laktoz ve bazı diğer şekerleri fermente edebilmesi; triptofandan indol üretebilmesi ile ayrılırlar (Sobel and Kaye, 2009), fakat “inaktif *E. coli*” olarak isimlendirilen kökenler laktozdan gaz üretilmesi ve hareket gibi özelliklere sahip olmayabilirler (Winn et al., 2005).

2. 1. 1. Biyokimyasal Testler

Tanımlanmalarında çeşitli biyokimyasal testler kullanılmaktadır. İndol, metil kırmızısı, Voges Proskauer ve sitrat (IMViC) test seti, üç şekerli besiyeri, hareket, üreaz ve lizin dekarboksilasyonu (LDK) testleri en çok kullanılan testlerdir. *E. coli* genellikle IMViC (+ + - -), üreaz (-), üç şekerli besiyeri (Asit/Asit, Gaz +, H₂S -) ve LDK (+) olarak değerlendirilmektedir.

İndol testi: Prensibi, bakterinin sahip olduğu triptofanaz enzimine dayanmaktadır. Besiyeri olarak genellikle sülfat – indol – hareket besiyeri kullanılmaktadır. İnkübasyon süresi sonunda, triptofanaz enzimi ile besiyerinde mevcut olan triptofan yıkılarak indol açığa çıkmaktadır. Damlatılan Kovacks Ayracı' nın temel bileşeni olan *p* – dimetil amino benzaldehit' in aldehit grubu ile indolün reaksiyona girmesi sonucu parlak kırmızı renk oluşumu gözlemlenmektedir (Winn et al., 2005).

Metil kırmızısı testi; Bakterinin karışık asit yol izi kullanımını belirlemektedir. Besiyeri olarak MR/VP besiyeri kullanılmaktadır. Karışık asit yol izini kullanan bakteri, inkübasyon süresi sonunda glukoz fermentasyonu ile yoğun bir şekilde asit üretmektedir; bu durumda ortama metil kırmızısı ilave edildiğinde pH 4.4' de ise testin pozitif olduğunu belirleyen kırmızı renk gözlemlenir. Eğer pH 4.4' e incek kadar asit üretilmemiş ise ayrıca eklendiğinde renk sarı olarak gözlemlenir (Winn et al., 2005).

Voges – Proskauer testi; Organizmanın fermentasyon sonucu asetoin üretimini göstermek için uygulanmaktadır; metil kırmızısı testi ile aynı besiyeri kullanılmaktadır. Atmosferik oksijen ve %40 potasyum hidroksit ile asetoin diasetil halini almaktadır. α – naftol ise katalizör görevi görmektedir; karışımın üzerine eklendiğinde ortaya kırmızı renkli bir kompleks çıkmasını sağlamaktadır. Böylece, kırmızı renk görünümü pozitif, sarı renk görünümü negatif olarak değerlendirilmektedir (Winn et al., 2005).

Sitrat testi; Organizmanın tek karbon kaynağı olarak sitrat kullanımını araştırmaya yönelik geliştirilmiştir. Simmon' s sitrat agar kullanılmaktadır. Sitrat kullanımı sonucu alkali ürünler oluşmaktadır; böylece besiyerinin 6.9 olan pH' sı yükselmektedir. Besiyerinde mevcut bromtimol mavisinin rengi 7.6 iken mavi olmaktadır. Dolayısı ile pH yüksekliğinden dolayı yeşil olan besiyerinin rengi maviye dönmektedir. Renk değişimi dışında üreme olması da pozitif olarak kabul edilmektedir; bunun nedeni ortamdaki tek karbon kaynağının sitrat olmasıdır. Genellikle inkübasyon süresi uzatıldığında renk değişimi gözlemlenebilmektedir (Winn et al., 2005).

Üreaz testi; Organizmanın üreaz enzimine sahip olup olmadığını belirlemek için kullanılmaktadır. Üreaz enzimi, ürenin amonyağa hidrolizini gerçekleştirmektedir. Enzime sahip olan organizma, üreyi amonyağa hidroliz ederek, ortam pH' sının yükselmesine sebep olmaktadır. Besiyerindeki fenol kırmızısı ise pH 8.1 üzerinde pembe – kırmızı renk oluşturmaktadır; böylece pembe – kırmızı renk varlığında üreaz enzimi varlığı anlaşılmaktadır (Winn et al., 2005).

Üç şekerli besiyeri; Glukoz laktoz ve/ veya sukroz fermentasyonunu, gaz oluşumu ve H₂S oluşumunu belirlemek için kullanılan testlerden birisidir. Bir tüp içerisinde hem aerobik faz (yüzey), hem de anaerobik faz (dip) elde edilebilmektedir. Besiyerinde glukoz göre 10 kat daha fazla sukroz ve laktoz bulunmaktadır; amacı ise, pH değişikliğini belirli bir düzeyde tutarak, sadece glukoz fermentasyonu olduğu durumda yalnızca dip kısmın renginin sarıya dönmesini sağlamaktır.

Üç şekerli besiyerine laktoz ve sukroz fermentasyonu yapamayan fakat glukoz fermentasyonu yeteneğine sahip bir organizma ekildiğinde, ilk 3 – 4 saat içerisinde bütün

besiyeri anaerobik ortamda fermentasyon nedeni ile sarı renge dönmektedir. İleriki saatlerde ise besiyerindeki bütün mevcut glukoz fermente olmakta ve organizma aerobik ortamda aminoasit yıkımına geçmektedir. Böylece besiyeri yüzeyi kırmızı, dip kısmı ise sarı olmaktadır.

Laktoz ve/ veya sukroz fermente eden bir organizma ekildiğinde ise şeker miktarı fermentasyon için yeterli kalmaktadır; dolayısı ile hem yüzeyde hem dipte sarı renk gözlemlenmektedir.

Fermentatif olmayan bir bakteri ekildiğinde; aminoasit yıkımından dolayı yüzey kırmızı, dip renk değişikliği olmadan kalacaktır.

Glukozu fermente eden bazı bakteriler, fermentasyon sonucu karbon dioksit (CO₂) gazı açığa çıkarmaktadır. Fermentasyon sırasında gaz oluşumu mevcut ise besiyerinde hava kabarcıkları görülmektedir (Winn et al., 2005).

Üç şekerli besiyerinde ayrıca H₂S üretimine de bakılmaktadır. H₂S varlığında besiyeri siyah olmaktadır.

Lizin demir agar besiyeri; Lizin dekarboksilasyonu ve lizin deaminasyonuna bakılabilmektedir. Lizin dekarboksilasyonu, lizinden kadaverin oluşumudur. Bu reaksiyon lizin dekarboksilaz enzimi vasıtası ile gerçekleşmektedir. Besiyeri, pH indikatörü olarak bromkrezol moru içermektedir. Ayrıca glukoz da mevcuttur.

Glukoz fermente eden bakteri, öncelikle glukozu fermente ederek, besiyerinin dip kısmını sarıya dönüştürmektedir. İnkübasyon süresi sonunda sarı olan dip kısım, üretilen kadaverinin bazik özelliğinden dolayı tekrar mor renk almaktadır. Lizin dekarboksilasyonu negatif ise, besiyerinin dip kısmı sarı olarak kalmaktadır.

İnoküle edilen organizma lizini deaminaz enzimine sahip ise besiyeri yüzeyi kırmızı renge dönmektedir. Dip kısım ise sarı kalmaktadır. Bu durumun nedeni, deaminasyon işleminin sadece aerobik ortamda olmasıdır.

Organizma sodyum tiyosülfattan H₂S oluşturuyorsa, oluşan H₂S besiyerindeki demir iyonları ile reaksiyona girerek siyah renk oluşumuna sebep olur (Winn et al., 2005).

2. 1. 2. *E. coli* Patotipleri

E. coli, doğumdan sonraki bir – iki saat içerisinde gastrointestinal sistemde kolonize olmaya başlamaktadır. Genellikle bakteri ve konağı, yıllar boyunca birbirlerine karşılıklı yarar sağlayacak biçimde hayatlarını sürdürmektedir. Kommensal *E. coli* immun sistem baskılanması veya gastrointestinal bariyerlerin aşılması gibi durumlar haricinde

nadiren enfeksiyon oluşturmaktadır. Ancak, bazı iyi adapte olabilmış *E. coli* kökenleri spesifik virülans özelliği edinerek, hastalık yapabilme yeteneği yani yeni bir niş oluşturabilir. Edinilen bu virülans özelliklerinden en başarılı olan virülans faktörü kombinasyonları, spesifik patotipler oluşturabilecektir (Kaper et al., 2004).

Dolayısı ile edinilen nişe ve patojeniteye göre *E. coli*, temel olarak üç gruba ayrılmaktadır; kommensal, intestinal (diyarejenik) patojenik ve ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) (Russo and Johnson, 2000; Johnson and Russo, 2002).

E. coli' nin enfeksiyon oluşturabilme çeşitliliği, patofizyolojik ve oluşturdukları klinik sendroma göre sınıflandırma gerekliliğini getirmiştir (Sobel and Kaye, 2009). Patojen kökenlerin kommensal kökenlerden farklı olmaları, her patolojik tipin özel bazı virülans faktörlerine sahip olmaları ile ilişkilidir; bu nedenle farklı klinik sendromlardan farklı tipler sorumludur. Bu tipler ise “patotip” olarak adlandırılmaktadırlar (Russo and Johnson, 2000).

Patojen olmayan *E. coli*, gastrointestinal sistemde kommensal olarak yaşamaktadır. Kişinin immün sisteminde bir düşüş olduğu takdirde, ekstraintestinal bir enfeksiyon oluşturabilme yeteneği mevcuttur. İntestinal patojenik *E. coli* ise genellikle ishal ile seyreden çeşitli klinik tablolardan sorumludur. ExPEC ise asemptomatik intestinal kolonizasyon ve ekstraintestinal enfeksiyon yeteneğine sahiptir.

2. 1. 2. 1. Kommensal *E. coli*

Kommensal *E. coli*, gastrointestinal mikrobiyotanın dominant organizmasıdır. İnsan dışkısının 1 gramında 10^7 ile 10^9 koloni oluşturan birim (CFU) *E. coli* bulunmaktadır (Tenailon et al., 2010).

Genel olarak immün sistemde zayıflama olmadığı takdirde patojen değildir; gastrointestinal sistemde enfeksiyon oluşturmaksızın yaşarlar.

Çoğu kommensal *E. coli* kökeni, filogenetik olarak A grubuna aittir; tipik olarak patojen kökenlerin sahip olduğu intestinal veya ekstraintestinal virülans faktörlerine sahip değildir (Russo and Johnson, 2000).

2. 1. 2. 2. Diyarejenik *E. coli*

Diyarejenik *E. coli*, kendi içerisinde 6 gruba ayrılmaktadır; enterotoksijenik (ETEC), Shiga toksin oluşturan/ enterohemorajik (STEC/ EHEC), enteropatojenik (EPEC), enteroinvaziv (EIEC), enteroagregatif (EAEC) ve difüz aderan (DAEC) *E. coli* (Forbes et al., 2007; Russo and Johnson, 2000). Diyarejenik *E. coli* patotiplerinin epidemiyolojisi, klinik özellikleri, patojenitesi ve tanısı Çizelge 2. 1.' de özet olarak verilmiştir (Sobel and Kaye, 2009).

2. 1. 2. 3. Ekstraintestinal *E. coli*

E. coli, ÜSE' de en yaygın etkidir; yeni doğan menenjitinde ise önde gelen patojenlerdendir. Bu ekstraintestinal enfeksiyonlar haricinde hastane kökenli pnömoni, kolesistit, kolanjit, peritonit, selülit, osteomyelit ve enfeksiyöz arterit gibi enfeksiyonlardan da sorumludur (Sobel and Kaye, 2009).

ExPEC, kendi içerisinde üç gruba ayrılmaktadır; üropatojenik (UPEC), sepsis ile ilgili (SEPEC) ve yeni doğan menenjiti ile ilgili (NEMEC) *E. coli*. Fakat organizmanın gerçekleştirdiği enfeksiyonun doğası gereği, *E. coli*' ye bağlı ekstraintestinal enfeksiyonlarda patotip sınıflaması yanıltıcı olabilmektedir. Bunun nedeni, ekstraintestinal enfeksiyonların tek bir soy veya virülans genin varlığına ya da yokluğuna bağlı olmamasıdır (Russo and Johnson, 2000).

UPEC izolatları için tanımlanan çok sayıda virülans faktörü ve kolonizasyon stratejisi bulunmasına rağmen, bir ExPEC izolatının UPEC patotipine ait olup olmadığı tek bir özellik ile doğru şekilde belirlenememektedir (Wiles et al., 2008). ExPEC altındaki üç patotipin de konak savunmasını geçerek farklı insan veya hayvan anatomik bölgelerinde enfeksiyon yapabildiği belirlenmiştir (Johnson and Russo, 2005). Ayrıca, bazı virülans faktörleri farklı patotiplerde de sıklıkla görülebilmektedir. Bu nedenle isimlendirmede toplu olarak ExPEC sınıflaması önerilmiştir (Russo and Johnson, 2000).

Çizelge 2. 1. Diyarejenik *E. coli* epidemiyolojisi, klinik özellikleri, patojenitesi ve tanısı (Sobel and Kaye, 2009).

Patotip	Epidemiyoloji	Klinik Özellik	Patogenez	Tanı
ETEC	Kontamine su ve gıda; Gelişmekte olan ülkelerde çocuk ishalinde en büyük etken; Turist ishalinde başlıca etken.	Akut sulu ishal, bazen şiddetli.	Çok sayıda fimbrial adezinler, ısı duyarlı ve dirençli enterotoksinler.	Enterotoksinler için PZT veya DNA probu.
EPEC	Kişiden kişiye bulaş; Gelişmekte olan ülkelerde bebek ishalinde başlıca etken.	Şiddetli akut ishal, kusma görülebilir.	Demet oluşturan pili ile lokalize aderans; İntimin – Tir ile tutunma ve “ <u>effacing (saldır yok et)</u> ”	Lokalize aderans için hücre kültürü; <i>bfp</i> veya <i>eae</i> genleri için PZT veya DNA prob.
EHEC ve diğer STEC	Su, gıda ve kişiden kişiye bulaş; Gelişmiş ülkelerde kanlı ishalin en önemli etkeni.	Kanlı ve sulu ishal, hemolitik üremik sendrom (HÜS) ile komplike olabilir.	Shiga toksin; EHEC suşlarında intimin – Tir ile tutunma ve “effacing”.	Sorbitol – MacConkey agar, <i>stx</i> genleri için PZT veya DNA probu.
EAEC	Geçiş bilinmemekte; Gelişmekte olan ülkelerde kronik ishalde önemli bir etken.	Mukoid ishal, Genellikle persistan.	Birçok fimbria ile agregatif aderans; Pet ve diğer toksinler.	<i>aggR</i> geni için PZT veya difüz aderans için hücre kültürü.
EIEC	Kontamine gıda; Gelişmiş ülkelerde salgınlar.	Sulu ishal veya dizanteri.	Hücre sel istila, hücre içi hareket ve hücreden hücreye sıçrama.	<i>inv</i> genleri için PZT veya DNA probu.
DAEC	Geçiş bilinmemekte; gelişmekte olan ülkelerde büyük çocuk ishalinde etken	Tam olarak tanımlanmamıştır.	Bilinmiyor.	Difüz aderans için hücre kültürü.

2. 1. 2. 4. ExPEC Virülans Faktörleri

ExPEC için çeşitli sayıda virülans faktörü belirlenmiştir. Adezinler, toksinler, sideroforlar, kapsül tipleri ve muhtelif faktörler ExPEC için virülans ile ilişkili faktörleri oluşturmaktadır (Kaper et al., 2004; Pitout, 2012).

Virülans faktörlerinin kodlandığı patojenite adacıkları (PA), aynı tür içerisinde patojen olan kökenlerin genomunda bulunan, büyük (10 – 200 kb) genomik bölgelerdir. Bu bölgeler tipik olarak taşıyıcı ribonükleik asit (tRNA) genleri ile ilişkilidirler. Organizmanın ana genomundan Guanin+Sitozin oranı açısından farklıdırlar ve genellikle kriptik ve fonksiyonel genler kodlamaktadırlar. PA' lar genellikle virülans genlerinin kodlandığı bölgelerdir; dolayısı ile bu bölgeler varlığında organizma birçok virülans faktörü vasıtası ile patojenik kimlik kazanabilmektedir. Bir organizma PA' lara sahip ise virülans genlerinin çoğunu kodlayabilmektedir; fakat bütün virülans genleri PA' lar üzerinde bulunmamaktadır. Örneğin P, S, Dr adezin aileleri bir PA' da kodlanırken, Tip 1 fimbria organizmanın kendi genomunda kodlanmaktadır (Hacker et al., 1997; Kaper et al., 2004; Oelschlaeger et al., 2002). Çizelge 2. 2.' de UPEC için tanımlanan bazı virülans faktörleri ve kodlandığı bölgeler gösterilmiştir.

Çizelge 2. 2. UPEC için tanımlanan bazı virülans faktörleri ve kodlandığı bölge.

Virülans faktörü	Kodlandığı bölge
Tip 1 fimbria	Ana genom
P – Pili ailesi	PA
S – ailesi	PA
Dr – ailesi	PA
α – hemolizin	PA veya Plazmid
CNF 1	PA
Enterobactin	Ana genom
Aerobactin	PA veya Plazmid
Yersiniabactin	PA
O – antijen	Ana genom
Kapsül	PA
Sat proteaz	PA

P, S, F1C, M, Dr, G-F17c ve Tip 1 fimbria gibi adezinler; α – hemolizin, secreted autotransporter toxin (Sat), serin proteaz, vacuolating toxin (Vat), sitotoksik nekrotizan faktör (CNF) gibi toksinler; salmochelin, yersiniabactin, aerobactin gibi sideroforlar; kapsül tipleri; üropatojen – spesifik protein (usp), dış membran T proteazı, increased serum survival (iss) gibi çeşitli virülans faktörleri, UPEC için enfeksiyon ile ilgili doğrudan birer virülans faktörü olmaktan daha çok insan vücuduna kolonize olmak için uyum ve rekabet

yeteneğini arttıran sistemler olarak görülmektedir (Johnson and Russo, 2005; Mokady et al., 2005; Pitout, 2012).

ÜSE için virülans faktörlerinin en önemli grubu, adezinlerdir. Adezinlerin tutunma yeteneği kazandırması ile bakteri kolonize olabilmekte ve üriner sistemde farklı dokulara tutunabilmektedir. Vajinal ve periüretal bölgeye tutunabilen bakteri, üretra ağzına yakın bölgelere kolonize olabileceken, tutunamayanlar kolonize olamayacaklardır. ÜSE' ye sebep olan izolatların fekal izolatlara göre, piyelonefrite sebep olan izolatların ise sistite sebep olanlara göre üroepitelyal hücrelere daha iyi adere oldukları gösterilmiştir. Bu nedenle ÜSE' de adezinlerin yeri önemlidir (Johnson et al., 2005b; Mulvey, 2002; Sobel and Kaye, 2009).

Üropatojen *E. coli*' nin adezinleri pili veya fimbria olarak adlandırılan filamentöz yüzey organelleri ve dış membranda bulunan filamentöz olmayan proteinlerdir. Fimbrialar, reseptörlere bağlanmaları mannoz varlığında inhibe olanlar (mannoz duyarlı) ve reseptörlere bağlanmaları mannoz varlığında inhibe olmayanlar (mannoz dirençli) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Mannoz dirençli olanlar P, F1C, S, M, G ve Dr fimbria; mannoz duyarlı olan ise Tip 1 fimbriadır (Johnson, 1991; Khan et al., 2000; Mulvey, 2002; Sobel and Kaye, 2009).

Adezinler, konak üzerindeki farklı reseptörlere bağlanabilirler. Bunun sonucunda organizma böbrekte ve mesanede farklı bölgelere bağlanabilme yeteneği kazanmaktadır. Çizelge 2. 3.' de bazı adezinlerin bağlandığı reseptörler ve Çizelge 2. 4.' de *E. coli* adezinlerin insan böbreğine, mesanesine ve idrardaki epitel hücrelerine bağlanma bölgeleri gösterilmiştir.

Çizelge 2. 3. Bazı adezinlerin bağlandığı reseptörler (Khan et al., 2000; Roberts et al., 1994).

Adezin	Reseptör	Yorum
Tip 1	Epitel hücreleri (uroplakin) üzerindeki mannozlanmış proteinler ve PNL	THP ve SIgA' ya bağlanma
P	P kan grubu antijeni (Gal - α 1 - 4)	Normal üriner sistemde piyelonefrit için gerekli
S/F1C	Sialil (α - 2 - 3) galaktozidaz	THP, aderenesi inhibe etmekte
G	Terminal N - asetil - D - glukozamin	-
M	Galaktoz - N - asetil - galaktozamin	-
Dr	M kan grubu antijeni (Glikoprotein A)	-

PNL, polimorfonükleer lökosit; THP, Tamm - Horsfall proteini; SIgA, Salgısal İmmünglobulin A

Çizelge 2. 4. *E. coli* adezinlerinin böbrek, mesane ve idrardaki epitel hücrelerine bağlanması (Johnson, 1991).

Doku Bölgesi	Adezin Bağlanması				
	S	P	Tip 1	F1C	Dr
Böbrek					
Bowman Kapsülü	+++	+++	-	-	+++
Glomerül	+++	+++	-	-	-
Proksimal Tüp	++	++	+++	-	+++
Distal Tüp	++	++	+	++	+++
Toplama kanalı	++	+	+	++	+++
Damar çeperi	+++	+++	+++	+++	-
Mesane					
Epitel	++	+	-	-	+
Damar çeperi	+++	+++	++	+++	-
Kas tabakası	+	+	+++	+	+
Bağdoku	++	-	-	-	+++
İdrar					
Epitel hücreleri	+	+	-	-	+

Semboller: -, +, ++, +++, sırası ile belirlenememiş, zayıf, orta ve şiddetli bağlanma. Veriler, saflaştırılmış adezinlerin ve işaretlenmiş bakterilerin bağlanmasına dayanmaktadır.

ExPEC adezinleri kodlayan genler, genellikle operonlar üzerinde bulunmaktadır. Ürünler, tek bir genden ziyade, gen kümeleri vasıtasıyla oluşturulmaktadır. Şekil 2. 1.' de bazı adezinleri kodlayan gen grupları gösterilmiştir.



Şekil 2. 1. P fimbria (*pap*); tip 1 fimbria (*fim*); F1C fimbria (*foc*) ve S fimbria (*sfa*)' yı kodlayan gen kümelerinin fiziksel ve genetik haritası. Beyaz kutucuklar minör proteinleri kodlayan genleri, çizgili kutucuklar ise majör (yapısal) alt üniteleri kodlayan genleri göstermektedir (Johnson, 1991).

Çizelge 2. 5.' da epidemiyoloji çalışmalarında kullanılan bazı virülans genleri gösterilmiştir.

Çizelge 2. 5. Bazı virülans genleri ve virülanstaki rolleri (Johnson and Russo, 2005; Johnson et al., 2000a; Johnson et al., 2000b).

Gen	Virülanstaki Roller
<i>papAH</i>	Pap operonunda yapısal alt ünite; F antijeni belirteci.
<i>fimH</i>	D – mannoz spesifik adezin, tip 1 fimbria.
<i>focG</i>	F1C fimbria.
<i>gafD</i>	N – asetil – D – glukozamin spesifik (G, F17c fimbria adezin)
<i>sfa/focDE</i>	S fimbria ve F1C fimbria operonlarının ortak bölgesi
<i>afa/draBC</i>	Dr antijen – spesifik Adezin operonları (AFA I – III, Dr, F1845)
<i>bmaE</i>	Kan grubu M spesifik adezin (M fimbria)
<i>iha</i>	Demir alımı düzenleyici gen homolog adezini

2. 1. 3. *E. coli* Filogenetik Grupları

Filogenetik gruplama, izolatın kökenini belirlemede ve virülans genlerinin dağılımını araştırmada kullanılan bir sistemdir. *E. coli*, genel olarak dört farklı filogenetik gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar A, B1, B2 ve D olarak isimlendirilmektedir (Herzer et al., 1990). Grup B2 “atasal yol izlerini” içerirken; grup A ve B1 kardeş gruplar olarak gözükmektedir. Gruplar arasında, genom boyutlarında da farklar vardır; A ve B1 gruplarının genomları B2 ve D gruplarına göre daha küçüktür (Gordon et al., 2008). Gruplamada yakın zamana kadar, Multilokus Enzim Elektrofrezisi (MLEE) kullanılmıştır fakat son yıllarda konvansiyonel çoklu Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PZT) ile daha kolay olarak filogenetik gruplar belirlenebilmektedir (Clermont et al., 2000; Gordon et al., 2008).

ExPEC klinik izolatları, çoğunlukla B2, daha az sıklıkla D filogenetik grubuna aittirler. İntestinal *E. coli* ise A ve B1 grubunda daha yoğun olarak görülmektedir (Pitout, 2012). Bu durum, virülans faktörlerinin sıklığının da filogenetik gruplara göre değişimini etkilemektedir. Örneğin, geleneksel ürovirülans faktörü genlerinden *pap*, *sfa/foc*, *hly* ve *kps* B2 ve/ veya D filogenetik gruplarında daha sık görülürken; *afa/dra*, *iuc/iut* ve *traT* gibi genler daha geniş dağılım göstermektedir (Johnson and Russo, 2005; Picard et al., 1999). Ayrıca, gruplar arasında antibiyotik direnci açısından da farklar bulunmaktadır (Gordon et al., 2008).

2. 2. Üriner Sistem Enfeksiyonları

ÜSE, asemptomatik bakteriüriden sepsisle seyreden akut piyelonefrite kadar değişebilen çeşitli klinik durumları içermektedir. Enfeksiyon, sadece alt üriner sistemi veya hem alt hem üst üriner sistemi kapsayabilmektedir (Sobel and Kaye, 2009).

Üriner sistemde enfeksiyon ile kolonizasyonun ayırt edilebilmesi için, bazı kriterler bulunmaktadır. En önemli iki parametre bakteriüri ve piyüridir. Alınan idrar kültüründe iki parametrenin birlikte bulunması, üriner sistemde enfeksiyonu düşündürmektedir (Forbes et al., 2007; Garcia and Isenberg, 2007).

Bakteriüri; İdrarda bakteri bulunması durumu olarak tanımlanmaktadır.

Anlamli bakteriüri; Orta akım alınan idrarda, üretrada kontaminant olabilecek sayıdan daha fazla bakteri bulunması durumunu belirtmektedir ($\geq 10^5$ bakteri/ ml). Bu durum, *E. coli* gibi üropatojen olan organizmalar için farklı olarak tanımlanmıştır. Semptom varlığında $\geq 10^3$ bakteri/ ml anlamli sayılmaktadır (Aspevall et al., 2001; Garcia and Isenberg, 2007; Sobel and Kaye, 2009).

Piyüri; İdrarda lökosit varlığıdır. Piyüri belirlenmesi için farklı testler kullanılmaktadır. En güvenilir teknikler, lökosit kamarası ile sayım ve hızlı bir tarama testi olan lökosit esteraz testidir. Santrifüj edilmiş idrarda sedimentin incelenmesi, daha az güvenilir bir sistemdir. Rutinde en çok uygulanan teknik ise mevcut bakterinin de gözlemlenebilmesi nedeniyle taze alınmış, santrifüj edilmemiş idrarın Gram boyamayla incelenmesidir (Garcia and Isenberg, 2007; Mamikoğlu and İnan, 2008; Sobel and Kaye, 2009).

2. 2. 1. ÜSE' nin Sınıflaması

ÜSE, beş kategori altında toplanmaktadır; komplike olmayan sistit, komplike olmayan piyelonefrit, komplike ÜSE, asemptomatik bakteriüri ve yineleyen ÜSE (Nicolle et al., 2005).

Asemptomatik bakteriüri; Kişide bir semptom olmaksızın anlamli bakteriürinin belirlenmesidir. Tanı için 24 saat ara ile alınmış iki temiz orta akım idrarda da aynı organizmanın gösterilmesi gerekmektedir (Sobel and Kaye, 2009).

Anatomik konuma göre, üretra ve mesane alt üriner sistemin; üreterler ve böbrekler ise üst üriner sistemin elemanlarıdır (Forbes et al., 2007). Bu nedenle ÜSE, anatomik

konuma göre uretrit (üretra enfeksiyonu), sistit (mesane enfeksiyonu) ve piyelonefrit (böbrek enfeksiyonu) şeklinde sınıflandırılmıştır (Grabe et al., 2013).

Sistit; İdrar yaparken yanma (dizüri), sık idrara çıkma (pollakiüri), sıkışma hissi ve sıklıkla suprapubik hassasiyet görülen semptomları tanımlamak amacı ile kullanılmaktadır. Fakat bu semptomlar bakteriyel enfeksiyon olmadan alt üriner sistem enflamasyonlarında veya uretritte (örneğin gonore veya Klamidyal uretrit) de görülebilmektedir (Sobel and Kaye, 2009; Warren et al., 1999).

Piyelonefrit; Alt ÜSE semptomları beraberinde yan ağrısı, kostovertebral açı hassasiyeti (KVAH), ateş gibi semptomların hepsinin veya bir kısmının birlikte görüldüğü sendromu tanımlamaktadır (Sobel and Kaye, 2009; Warren et al., 1999).

Anatomik konum dışında, ÜSE komplike ve komplike olmayan şeklinde iki gruba ayrılmaktadır.

Komplike olmayan ÜSE; Yapısal veya fonksiyonel olarak normal olan bir üriner sistemde enfeksiyon oluşmasıdır.

Komplike ÜSE; Kateter kullanımı, böbrek taşı, vezikoüreteral reflü gibi yapısal veya diyabet ve böbrek yetmezliği gibi anomaliler varlığında oluşan enfeksiyonları tanımlamaktadır (Grabe et al., 2013; Sobel and Kaye, 2009). Erkeklerde, aksi ispat edilmediği takdirde idrar yolu enfeksiyonları komplike olarak kabul edilmektedir (Sobel and Kaye, 2009).

Bir ÜSE' nin rekürrensleri (nüksetmeleri) relaps veya reenfeksiyon şeklinde oluşmaktadır.

Relaps; Tedavi sonrasında tekrar aynı mikroorganizma ile oluşan enfeksiyonu tanımlamaktadır. Bu durum, üriner sistemde mikroorganizmanın persistansına (devamlı olarak bulunmasına) bağlıdır.

Reenfeksiyon; Bakteriürinin tedavi başlamadan önceki mikroorganizmadan farklı bir mikroorganizma ile görülmesidir. Reenfeksiyon, yeni bir enfeksiyondur. Kişinin dışkı veya vajenindeki bakterinin persistansına bağlı olarak tedavi öncesi görülen bakteri ile reenfeksiyon gerçekleşebilir; bu durum relaps ile karıştırılmamalıdır (Sobel and Kaye, 2009).

Ürosepsis; ÜSE' ye bağlı olarak sepsis sendromu gelişmesi durumu olarak tarif edilmektedir. ÜSE klinik bulguları eşliğinde vücut sıcaklığının 38 °C üzerinde veya 36 °C altında olması; kalp atım hızının 90 atım/ dakika üzerinde olması; solunum sayısının 20 / dakika' dan fazla olması veya kandaki karbondioksit basıncı (PaCO₂)' nın 32 mm Hg' dan düşük olması; beyaz küre sayısının 12.000/ mm³' den fazla veya 4.000/ mm³' den az

olması ya da % 10'dan fazla band formu olması ürosepsisi göstermektedir (Sobel and Kaye, 2009). ÜSE sınıflamasına ait bilgiler, Çizelge 2. 6.' de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 6. ÜSE sınıflaması (Horan et al., 2008; Sobel and Kaye, 2009; Warren et al., 1999).

Tanım	Klinik Bulgu	Laboratuvar Bulgusu
Sistit	Ürolojik anomali olmadan dizüri, pollakiüri, suprapubik hassasiyet, sıkışma hissi.	Piyüri, $\geq 10^3$ CFU/ ml üropatojen üremesi.
Piyelonefrit	Ürolojik anomali olmadan sistit bulgularına ek ateş, yan ağrısı, KVAH.	Piyüri, $\geq 10^3$ CFU/ ml üropatojen üremesi.
Komplike ÜSE	Sistit ve/ veya piyelonefrit bulguları ve komplike edici faktör.	Piyüri, $\geq 10^3$ CFU/ ml üropatojen üremesi.
Asemptomatik bakteriüri	–	24 saat ara ile alınmış iki orta akım idrarda $\geq 10^5$ CFU/ ml üreme.
Ürosepsis	Ateş < 36 °C veya > 38 °C, kalp hızı > 90 atım/ dakika, solunum > 20 / dakika, PaCO ₂ < 32 mm Hg, beyaz küre > 12.000 / mm ³ veya < 4.000 mm ³ veya $> \% 10$ band formu.	$\geq 10^3$ CFU/ ml üreme.

2. 2. 2. Patojenez

İdrar yolu enfeksiyonları etkili konak savunma sistemleri varlığına karşın, konak biyolojik ve davranışsal faktörlerinin bakteriyel virülans faktörleri ile birleşmesi sonucu oluşmaktadır. Organizmanın üriner sistemi istilası ve yayılması üç muhtemel yol ile gerçekleşmektedir; asendan, hematojen ve lenfatik yol (Sobel and Kaye, 2009).

Asendan yol: Fekal – vajinal – üretral hipotezine göre, ÜSE etkeni *E. coli* suşları konağın kendi dışkı ve perianal mikrobiyotasından türemektedir. Bu model, ilk olarak serolojik çalışma ile oluşturulmuştur; günümüzde moleküler çalışmalar ile desteklenmiştir (Johnson and Russo, 2005; Yamamoto et al., 1997). ÜSE patojenezinde en önemli yol olarak asendan yol görülmektedir. Şekil 2. 2., ÜSE' de asendan yol ile çeşitli basamaklar gösterilmiştir (Kaper et al., 2004).

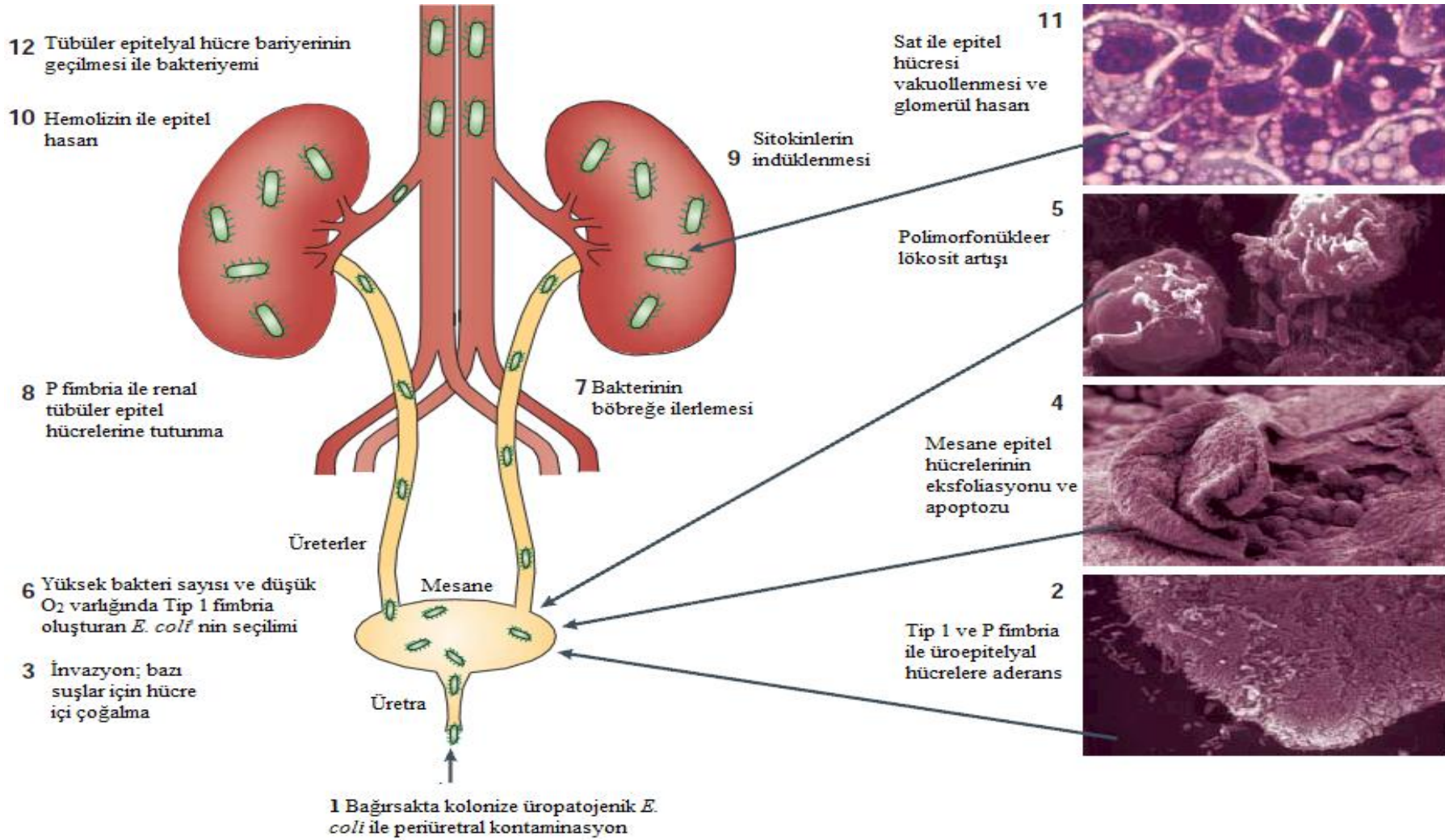
Kadın üretrası erkek üretrasına göre daha kısadır ve mikrobiyota için uygun bir ortam olan perianal bölgeye daha yakındır. Bakteri mesaneye ulaştıktan sonra çoğalmakta ve özellikle vezikoureteral reflü varlığında ureterleri geçerek böbrek pelvis ve parankimine

ulaşabilmektedir. Yapılan bazı çalışmalar, üriner enfeksiyon gerçekleşmeden önce perianal ve vajinal kolonizasyonun gerçekleştiğini göstermiştir (Sobel and Kaye, 2009).

Üretra, genellikle bakteriler ile kolonizedir. Kadınlarda, cinsel aktivite sırasında oluşan üretral masaj, bakterilerin mesaneye ilerlemesini sağlayabilmektedir. Kondom kullanımı ise travmatik etkiyi arttırabilmektedir (Sobel and Kaye, 2009).

Hematojen yol: Mikroorganizmaların kan yolu ile böbrek parankimine ulaşması, açıkça ortaya konulmuştur. Bazı bakteri türlerinin ve *Candida*'nın intravenöz olarak uygulanması ile deneysel piyelonefrit modelleri oluşturulmuştur fakat ÜSE'nda yaygın olan enterik patojenler ile deneysel piyelonefrit modelleri oluşturmak güçtür; üretral tıkanıklık gibi ek manuplasyonlar gerekmektedir. İnsanlarda, Gram negatif basillerin hematojen yol ile böbrek enfeksiyonu oluşturmaları nadiren görülmektedir (Sobel and Kaye, 2009).

Lenfatik yol: Piyelonefrit patojenezinde böbrek lenfatiklerinin rolü tam olarak bilinmemektedir. Hayvanlarda, üreter ve böbreklerin arasında lenfatik bağlantıların bulunduğu ve mesanede artan basıncın böbreklere doğru akıma neden olabileceği gösterilmiştir (Sobel and Kaye, 2009).



Şekil 2. 2. ÜSE' nda asendal yol basamakları (Kaper et al., 2004).

2. 2. 3. Nozokomiyal ÜSE

Nozokomiyal (hastane kökenli) ÜSE terimi, hastanede edinilen enfeksiyon tanımından daha çok, sağlık hizmeti veren herhangi bir kurum ile ilişkili ÜSE' yi tanımlamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Korunma ve Önleme Merkezi (CDC), “nozokomiyal (nosocomial)” terimi yerine daha kapsamlı olan “sağlık hizmeti ile ilişkili (health care - associated)” terimini önermektedir. Bunun nedeni, ev de dahil olmak üzere hastane dışında farklı yerlerde sağlık hizmetlerinin verilebilmesidir (Sobel and Kaye, 2009). Fakat ülkemizde, bu terim yerine hastane kökenli veya nozokomiyal terimi kullanılmaktadır.

CDC önerilerine göre hastane kökenli enfeksiyon tanımı, organizmanın kuluçka süresine göre değişmekle birlikte, genel olarak hasta hastaneye yattıktan 48 – 72 saat sonra ve taburcu olduktan sonra 10 gün içerisinde enfeksiyon gelişmesi şeklindedir (Horan et al., 2008).

ÜSE, nozokomiyal enfeksiyonların % 40 – 60' ını oluşturmaktadır. Bu oran, diğer hastane kökenli enfeksiyonlar içerisinde en yaygın olanıdır. Hastane kökenli ÜSE' nin ortalama % 80' i ise kateter ile ilişkilidir (Hooton et al., 2010; Wagenlehner and Naber, 2000).

Hastane kökenli ÜSE genellikle komplike olmakla beraber, izolatların direnç oranları toplum kökenli olan izolatlara göre daha yüksektir. Bu nedenle tanı ve tedavileri toplum kökenli enfeksiyonlara göre daha zordur (Wagenlehner and Naber, 2000).

3. GEREÇ – YÖNTEM

3. 1. Araştırma Popülasyonu

Araştırmaya alınması planlanan gönüllü popülasyonu, semptomatik olarak ÜSE geçirmekte olan kişileri içermektedir. Tekrar olan örnekler çalışmaya alınmamıştır. Araştırmanın niteliği, analitik; tasarımı ise açık etiketlidir.

3. 2. Etik Kurul Onayı

Kocaeli Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (KOÜ KAEK)'na "Etik Kurul Onayı" için 11.09.2012 tarihinde başvurulmuştur. KOÜ KAEK 2012/92 proje numarası ve 11/1 karar numarası ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığı kararı, 25.09.2012 tarihinde tarafımıza bildirilmiştir. Araştırma için 27.09.2012 – 30.04.2013 tarihleri arasında örnek toplanmıştır.

3. 3. Hasta Bilgi Formu

Hastaların çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul ettiklerini ve çalışma konusunda bilgilendirildiklerini belgelemek amacıyla "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" oluşturulmuştur (Çizelge 3. 1.).

Hastanın geçirdiği enfeksiyonun yeri (sistit ve piyelonefrit), kökeni (hastane ve toplum) ve komplikasyonu (komplike ve komplike olmayan) gibi verileri belirlemek için "Hasta Bilgi Formu" oluşturulmuştur (Çizelge 3. 2.). Elde edilen veriler ile enfeksiyonun durumunun Infectious Diseases Society of America (IDSA) önerilerine göre sınıflandırılması planlanmıştır. Hastaneye yattıktan 48 saat sonra ve çıkıştan 10 gün içerisinde geçirilen enfeksiyon nozokomiyal; üriner sistem ile ilgili taş, kronik böbrek yetmezliği gibi hastalıklar; şeker hastalığı; sonda veya üriner sistem operasyonu gibi bulgular ise komplike edici faktör olarak belirlenmiştir (Sobel and Kaye, 2009; Warren et al., 1999).

Çizelge 3. 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu.

Yapılması planlanan çalışma, idrar yolu enfeksiyonu geçiren hastaları kapsamaktadır. Kültür için laboratuara verilmiş olan idrar örneklerinden üremiş olan bakteriler üzerinde çalışılacaktır. Hastadan ek bir örnek alınmayacaktır.

Çalışma hakkındaki bu bilgilendirme formunu okuduğumu teyit ederim.

Ad – Soyad :
Hastaya Yakınlık Derecesi :
Tarih :
İmza :

Çizelge 3. 2. Hasta Bilgi Formu.

İdrar Yolu Enfeksiyonu Hasta Bilgi Formu

Çalışma hakkında şahsıma sorulan soruları cevaplamayı kabul ediyorum.

İMZA

--

Dosya Numarası	Laboratuvar Protokol Numarası			
Ad – Soyad	Başvuru Tarihi			
Başvurduğu Klinik	Telefon Numarası			
Cinsiyet	Kadın <input type="checkbox"/>	Erkek <input type="checkbox"/>	Doğum Tarihi	
Medeni Durumu	Evli <input type="checkbox"/>	Bekar <input type="checkbox"/>	Şeker Hastalığı	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>
Böbrek Hastalığı	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>	İlk İdrar Yolu Enfeksiyonu Geçirdiği Yaş	
Var ise Adı	Son Bir Yılda Geçirilen İYE Sayısı 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> Daha Fazla <input type="checkbox"/>			
Son 1 Ayda Hastanede Yatış	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>	Üriner Sistem Operasyonu	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>
Var ise Tarihi, Nedeni	Var ise Tarihi, Adı			
Hiç Sonda Takıldı mı?	Evet <input type="checkbox"/>	Hayır <input type="checkbox"/>	İdrarda Yaparken Yanma (Dizüri)	
Var ise Zamanı, Nedeni	0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> Kaç Gündür? <input type="text"/>			
Sık İdrara Çıkma (Pollaküri) (1 Saatte)	Kasık Bölgesinde (Suprapubik) Ağrı			
0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> Kaç Gündür? <input type="text"/>	0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> Kaç Gündür? <input type="text"/>			
Sıkışma Hissi	Kostovertebral Hassasiyet			
0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> Kaç Gündür? <input type="text"/>	0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> Kaç Gündür? <input type="text"/>			
Yan Ağrısı	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>	Titreme / Üşüme / Bulantı	
Ateş	Var <input type="checkbox"/> °C	Yok <input type="checkbox"/>	Var <input type="checkbox"/> Yok <input type="checkbox"/>	
Hastaneye Yatış Tarihi	Hastaneye Yatma			
	Yatıyor <input type="checkbox"/> Ayaktan <input type="checkbox"/>			
Hastaneye Yatış Tarihi		İdrar Örneğinin Alındığı Tarih		
Değerler; 0: Yok 1: Hafif 2: Orta 3: Şiddetli				

3. 4. Besiyelerinin, Ayraçların ve Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

3. 4. 1. Eozin – Metilen Mavili (EMB) Agar

Eozin – metilen mavili (EMB) agar (Merck, Almanya), ticari olarak satılan preparatından üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika steril edildikten sonra yaklaşık 45 – 50 °C’ ye kadar soğutulmuştur. Besiyeri, plastik petri kutularına 3 – 4 mm olacak şekilde aseptik şartlarda dökülmüştür ve düzgün bir zeminde polimerizasyona bırakılmıştır.

3. 4. 2. Gliserol (%15) İçeren Triptik Soy Buyyon (TSB)

Triptik soy buyyon (Merck, Almanya) ticari olarak satılan preparatından üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır. Besiyerinin %15’ i gliserol (Merck, Almanya) olacağından, eklenmesi gerekli su miktarı eksik konulmuştur; kalan kısım ise gliserol ile tamamlanmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika sterilizasyon işlemi ardından steril 1.5 ml’ lik mikrosantrifüj tüplerine 1 ml olacak şekilde aseptik şartlarda porsiyonlanmıştır. Kullanılana kadar +4 °C’ de saklanmıştır.

3. 4. 3. Luria – Bertani (LB) Buyyon

Luria – Bertani (LB) buyyon (Becton Dickinson, ABD) ticari olarak satılan preparatlardan üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika steril edildikten sonra steril 1.5 ml’ lik mikrosantrifüj tüplerine 1 ml olacak şekilde aseptik şartlarda porsiyonlanmıştır. Kullanılana kadar +4 °C’ de saklanmıştır.

3. 4. 4. Mueller – Hinton Agar (MHA)

Mueller – Hinton agar (Merck, Almanya), ticari olarak satılan preparatından üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika steril edildikten sonra yaklaşık 45 – 50 °C’ ye kadar soğutulmuştur. Besiyeri, plastik petri kutularına 4 mm olacak şekilde aseptik şartlarda dökülüp düzgün bir zeminde polimerizasyona bırakılmıştır. Kullanılana kadar +4 °C’ de saklanmıştır.

3. 4. 5. Mueller – Hinton Buyyon (MHB)

Mueller – Hinton Buyyon (Merck, Almanya) ticari olarak satılan preparatlardan üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır. Eritildikten sonra, cam deney tüplerine 5 ml olacak şekilde porsiyonlanmıştır, ağızları pamuk ile kapatılmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika steril edilmiştir. Kullanılana kadar +4 °C’ de saklanmıştır.

3. 4. 6. Üç Şekerli Besiyeri

Triple Sugar Iron (TSI) Agar (Merck, Almanya) ticari olarak satılan preparatlardan üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır. Eritildikten sonra, cam deney tüplerine 12 ml olacak şekilde porsiyonlanmış, ağızları pamuk ile kapatılmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon işlemi ardından 1/3’ ü dipte, 2/3’ ü yatık olacak şekilde polimerizasyona bırakılmıştır. Kullanılana kadar +4 °C’ de saklanmıştır.

3. 4. 7. Sülfid – İndol – Hareket Besiyeri

Sulfide – Indol – Motility (SIM) Medium (Merck, Almanya) ticari olarak satılan preparatlardan üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır. Eritildikten sonra, cam deney tüplerine 5 cm olacak şekilde porsiyonlanmıştır, ağızları pamuk ile kapatılmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon işlemi ardından dik olarak polimerizasyona bırakılmıştır. Kullanılana kadar +4 °C’ de saklanmıştır.

3. 4. 8. Metil Kırmızısı – Voges Proskauer Besiyeri

Methyl Red – Voges Proskauer (MR – VP) Medium (Merck, Almanya) ticari olarak satılan preparatlardan üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır. Eritildikten sonra, cam deney tüplerine 5 ml olacak şekilde porsiyonlanmıştır, ağızları pamuk ile kapatılmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika steril edilmiştir. Kullanılana kadar +4 °C’ de saklanmıştır.

3. 4. 9. Simmons Sitrat Agar

Simmons Citrate Agar (Merck, Almanya) ticari olarak satılan preparatlardan üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır. Eritildikten sonra, cam deney tüplerine 5 ml olacak şekilde porsiyonlanmış, ağızları pamuk ile kapatılmış ve 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon işlemi ardından tamamı yatık bir alan oluşturacak şekilde polimerizasyona bırakılmıştır. Kullanılana kadar +4 °C' de saklanmıştır.

3. 4. 10. Lizin – Demir Agar

Lysine Iron Agar (LIA) (Merck, Almanya) ticari olarak satılan preparatlardan üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır. Eritildikten sonra, cam deney tüplerine 12 ml olacak şekilde porsiyonlanmış, ağızları pamuk ile kapatılmış ve 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon işlemi ardından 1/3' ü dipte, 2/3' ü yatık olacak şekilde polimerizasyona bırakılmıştır. Kullanılana kadar +4 °C' de saklanmıştır.

3. 4. 11. Üreaz Besiyeri

Christensen urea agar base (Merck, Almanya) ticari olarak satılan preparatlardan üreticinin tavsiyesine uygun olarak hazırlanmıştır. 121 °C' de 15 dakika steril edilip, 45 – 55 °C' ye geldiğinde litreye 50 ml olacak şekilde %40' lık steril üre solüsyonu (Merck, Almanya) ilave edilmiştir. Steril cam deney tüplerine 5 ml olacak şekilde porsiyonlanmıştır. Tamamı yatık bir alan oluşturacak şekilde polimerizasyona bırakılmıştır. Kullanılana kadar +4 °C' de saklanmıştır.

3. 4. 12. Tampon Çözeltilerin ve Reaktiflerin Hazırlanması

Tampon çözeltiler ve reaktifler Çizelge 3. 3. 'de gösterildikleri şekilde hazırlanmıştır.

Çizelge 3. 3. Tampon çözeltilerin ve reaktiflerin hazırlanması

Tampon Çözelti Adı	Konsantrasyonu ve Miktarı	Hazırlanışı
EDTA pH 8,0	0.5 M, 500 ml	73.06 g EDTA tartılarak 450 ml saf suda 60 °C' de karıştırılırken sodyum hidroksit (NaOH) ile çözülmüştür. Bu sırada pH 8,0 olduğunda NaOH eklenmesi kesilmiştir.
TBE	10 X, 600 ml	64,8 g Tris, 33 g borik asit ve 24 ml EDTA (0,5 M pH 8,0) 550 ml saf suda çözülmüştür. 600 ml' ye tamamlanarak steril edilmiştir.
Üre Solüsyonu	% 40, 100 ml	90 ml' ye 40 g üre ilave edilmiştir. 100 ml' ye tamamlanarak çözülmüştür. 0,2 µm' lik filtre ile steril edilmiştir. +4 °C' de saklanmıştır.
Metil Kırmızısı Ayıracı	125 ml	0,025 g Metil kırmızısı 75 ml %96' lık etil alkol içerisinde çözülmüştür. 50 ml saf su ilave edilmiştir. Karanlıkta saklanmıştır.
α – Naftol	% 5, 100 ml	5 g α – naftol, 100 ml % 96' lık etil alkol içinde çözülmüştür. Oda sıcaklığında saklanmıştır.
Potasyum Hidroksit (KOH)	% 40, 100 ml	95 ml saf suda 40 g potasyum hidroksit (KOH) çözülmüştür. 100 ml' ye tamamlanmıştır.
Kovacs Ayıracı	200 ml	150 ml İzoamil alkol içerisinde 10 g p - dimetil amino benzaldehit ilave edilmiştir. Karışımın üzerine 50 ml % 37' lik hidroklorik asit (HCl) eklenmiştir. +4 °C' de ve karanlıkta saklanmıştır.
0,5 McFarland Standardı	100 ml	0.048 mol/l 'lik baryum klorid (BaCl ₂) çözeltisinden 0.5 ml ve 0,18 mol/l' lik sülfürik asit çözeltisinden 99.5 ml karıştırılmıştır.
50 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, ABD)	500 µl	100 µl 6 X DNA Loading Dye (Thermo Scientific, ABD) ve 400 µl steril saf su ladder tüpünün içerisine eklenmiştir.

3. 5. Örnek Seçimi

Kocaeli Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji Birimi' ne gönderilen idrar örnekleri, EMB Agar (Salubris, Türkiye) ve %5 KKA (Salubris, Türkiye) besiyerlerine kantitatif olarak aseptik şartlar altında ekilmişlerdir. İdrar örnekleri, Gram boyama yöntemi ile boyanarak bakteri ve lökosit aranmıştır. Üreme olan plaklar, Vitek 2 (BioMérieux, Fransa) sistemi ile tanımlanmıştır. 10³ CFU / ml üreme ve piyüri varlığı

enfeksiyon olarak kabul edilmiştir (Garcia and Isenberg, 2007; Sobel and Kaye, 2009; Warren et al., 1999). *E. coli* olarak tanımlanan izolatlar, %15 gliserol içeren Triptik Soy Buyyon (Merck, Almanya) besiyerinde etiketlenerek, çalışmaya alınana kadar -80 °C’ de saklanmışlardır.

Eş zamanlı olarak, ‘Sonuç Alma Birimi’ vasıtası ile hastalara ulaşılmış, çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden kişilere “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” ile bilgi verilmiş ve geçirmekte oldukları enfeksiyon “Hasta Bilgi Formu” vasıtası ile sınıflandırılmıştır.

3. 6. Saklamadan Çıkarılan Örneklerin Çalışılması

Çalışılacak örnekler, -80 °C’ den çıkartılarak EMB agara aseptik şartlar altında tek koloni düşürme yöntemi ile pasajlanmışlardır. 37 ± 2 °C’ de 18 ± 2 saat inkübasyon sonunda, tek düşmüş kolonilerden EMB agara ikinci pasaj alınmıştır. Aynı süre ve sıcaklıkta inkübasyon sonunda, biyokimyasal reaksiyonlar ile tanımlamaları yapılmıştır (Winn et al., 2005).

3. 6. 1. Tanımlamada Kullanılan Biyokimyasal Testler

Kullanılan biyokimyasal testler Çizelge 3. 4. ’ e göre yorumlanmıştır. Testlerde kullanılan pozitif ve negatif kontroller ise Çizelge 3. 5. ’ de gösterilmiştir.

3. 6. 1. 1. Üç Şeker Testi

Tek koloniden iğne öze ile dip kısmına batırma, özeyi tüpün içerisinden çıkarmadan yüzey kısmına çizgi ekim gerçekleştirilmiştir. Tüpler 37 ± 2 °C’ de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda tüpler gaz oluşumu, laktoz ve/ veya sukroz fermentasyonu, glukoz fermentasyonu ve H₂S oluşumu yönünden incelenmiştir. Dip sarı – yüzey sarı glukoz – laktoz ve/ veya sukroz fermentasyonu pozitif, dip sarı yüzey kırmızı glukoz fermentasyon pozitif, laktoz ve/ veya sukroz fermentasyonu negatif olarak değerlendirilmiştir (Winn et al., 2005).

3. 6. 1. 2. İndol ve Hareket Testi

EMB agarda üremiş bir koloniden, SIM besiyerine iğne öze ile batırma ekimi gerçekleştirilmiştir. Tüpler 37 ± 2 °C’ de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinde önce hareket tayini, ardından indol testi gerçekleştirilmiştir.

Ekim çizgisinden besiyerine yayılan bir üreme varlığında hareket testi pozitif, sadece ekim çizgisinde üreme var ise test negatif olarak değerlendirilmiştir (Winn et al., 2005).

Tüpün kenarından 5 damla Kovacs Ayırıcı damlatılmıştır. Damlatılan çözelti parlak kırmızı renk alıyorsa test pozitif, renk değişikliği olmuyorsa test negatif olarak kabul edilmiştir (Winn et al., 2005).

Bu besiyerinde ayrıca hidrojen sülfür (H_2S) oluşumuna bakılabilmektedir. H_2S pozitifliğinde siyah renk görülür. Negatiflikte ise renk değişimi yoktur. (Winn et al., 2005).

3. 6. 1. 3. Metil Kırmızısı Testi

Metil kırmızısı testi öncesinde, bir tüpe 1 ml kültür sıvısı, Voges – Proskauer testi için ayrılmıştır.

MR – VP besiyerine tek koloniden halka öze ile ekim yapılmıştır. Tüpler 37 ± 2 °C’ de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir.

Metil kırmızısı ayırıcı, 5 damla olacak şekilde kültür sıvısına damlatılmıştır. Parlak kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Turuncu ve sarı renk ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Winn et al., 2005).

3. 6. 1. 4. Voges – Proskauer Testi

Alınan 1 ml kültür sıvısı üzerine, 0.6 ml %5 α – naftol, ardından 0.2 ml %40 KOH damlatılmıştır. Kültür sıvısının oksijenlenmesi için tüpler parmakla vurularak hafifçe çalkalanmıştır ve 15 dakika oda ısısında bekletilmiştir. Süre sonunda kırmızı renk görülen izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Renk görülmeyen izolatların ise bekletilme süresi 30 dakikaya çıkartılmıştır. Bu süre sonunda renk değişimi mevcut değil ise test negatif olarak değerlendirilmiştir (Winn et al., 2005).

3. 6. 1. 5. Sitrat Kullanım Testi

Simmon' un sitrat besiyerine tek koloniden iğne öze ile çizgi ekim gerçekleştirilmiştir. Tüpler 37 ± 2 °C' de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda yeşil olan besiyerinin renginin maviye dönmesi veya sadece üreme olması pozitif, besiyeri renginin yeşil kalması veya üreme olmaması negatif olarak değerlendirilmiştir.

3. 6. 1. 6. Üreaz Testi

Üre besiyerine tek koloniden iğne öze ile çizgi ekim gerçekleştirilmiştir. Tüpler 37 ± 2 °C' de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda sarı olan besiyerinin renginin pembeye dönmesi pozitif olarak, renk değişikliği olmaması negatif olarak değerlendirilmiştir (Winn et al., 2005).

3. 6. 1. 7. Lizin Dekarboksilaz Testi

LIA besiyerine tek koloniden iğne öze ile dip kısmına batırma, özeyi tüpün içerisinden çıkarmadan yüzey kısmına çizgi ekim gerçekleştirilmiştir. Tüpler 37 ± 2 °C' de 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda lizin dekarboksilasyonu veya deaminasyonu, H₂S oluşumu aranmıştır. Dip mor – yüzey mor lizin dekarboksilaz pozitif, dip sarı – yüzey mor lizin dekarboksilaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Winn et al., 2005).

Çizelge 3. 4. *E. coli* tanımlamasında kullanılan çeşitli biyokimyasal testler ve görülme sıklıkları (Winn et al., 2005).

	Üç Şekerli Besiyeri					İndol	M-R	V-P	Sitrat	LDK	Üre	Hareket
	Glukoz	Laktoz	Sukroz	Gaz	H ₂ S							
<i>E. coli</i>	%100	%95	%0	%95	%1	%98	%99	%0	%1	%90	%1	%95
İnaktif <i>E. coli</i>	%100	%25	%0	%5	%1	%80	%95	%0	%1	%40	%1	%5

Çizelge 3. 5. Testlerde kullanılan pozitif ve negatif kontroller (Winn et al., 2005).

Kullanıldığı Test	Pozitif Kontrol Organizmalar	Negatif Kontrol Organizmalar
TSI	<i>E. coli</i> ATCC 25922	-
Hareket	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
İndol	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Metil Kırmızısı	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Voges – Proskauer	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Sitrat	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922
LDK	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus sp.</i>
Üreaz	<i>Proteus sp.</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922

3. 6. 2. Deoksiribonükleik Asit İzolasyonu

Hem filogenetik gruplama hem de virülans genlerini belirlemek amacı ile gerçekleştirilecek PZT için deoksiribonükleik asit (DNA) izolasyonu, kaynatma metodu ile gerçekleştirilmiştir (Clermont et al., 2000; Johnson and Stell, 2000). Temel prensip, bakteri hücrelerini kırarak DNA' ya bağlı büyük proteinlerin yapısını bozmaktır.

DNA izolasyonu için tek koloni düşürme yöntemi ile elde edilen bir koloni, aseptik şartlar altında mikrosantrifüj tüpü içerisindeki 1 ml LB Buyyon besiyerine ekilerek 37 ± 2 °C' de, 18 ± 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, 10 dakika 14000 rpm devirde pelet elde edilerek santrifüj sonrası üst sıvı mikropipet ile pelet oynatılmadan çekilmiş ve yerine 200 µl steril – saf su eklenmiştir. Tüp içerisinde pipetaj yapılarak, pelet çözülmüştür. Çözülen pelet kuru ısıtıcı bloğu (Eppendorff, Almanya) içerisine alınarak, 97 °C' de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında belirli aralıklar ile vortekslenerek ısının dağılması sağlanmıştır. Süre sonunda mikrosantrifüj tüpleri buz üzerine alınmıştır. Buz üzerinde 1 dakika inkübe edildikten sonra, 1 dakika 14000 rpm' de tekrar santrifüjlenmiştir. Elde edilen üst sıvı, ikiye bölünerek steril bir mikrosantrifüj tüpüne alınıp etiketlenmiştir. Elde edilen DNA, kullanılabildiği kadar -20 °C' de saklanmıştır. Aynı örneğin ikinci mikrosantrifüj tüpü ise -80 °C' de stok olarak saklanmıştır.

3. 6. 3. Antimikrobiyal Duyarlılıkların Belirlenmesi

İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde Kirby – Bauer Disk Difüzyon Yöntemi kullanılmıştır (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre hangi antibiyotiklerin çalışılacağı, disk içerikleri, duyarlılık zonları ve antibiyotik grupları Çizelge 3. 6. 'da verilmiştir.

Saklamadan çıkartılıp 2 kez pasajlanan izolatlardan, BaSO₄ 0,5 McFarland (5×10^8 organizma) standart değerinde bakteri süspansiyonu oluşturulmuştur. Bunun için 3 – 5 adet koloni, pamuklu steril eküvyon vasıtası ile aseptik şartlarda cam tüp içerisindeki 5 ml Mueller – Hinton Buyyon (Merck, Almanya) besiyerinde süspanse edilmiştir. 0,5 McFarland değerine gelene kadar gerektiği takdirde koloni süspanse edilmiş veya Mueller – Hinton Buyyon ilave edilmiştir. 0,5 McFarland değeri, beyaz zemin üzerinde bulunan siyah çizgiler ile belirlenmiştir.

Disk difüzyon testinde besiyeri olarak Mueller – Hinton Agar (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Petri kaplarına dökülen besiyeri, 4 mm (20 ml) olacak şekilde ayarlanmış ve önceden kurutulmuştur. McFarland standardı hazırlandıktan sonra, çalışılacak izolat 15 dakika içerisinde inoküle edilmiştir.

Eküvyon çubukta bulunan süspansiyon, besiyerinin ortasında yukarıdan aşağıya doğru çekilmiş, eküvyon sağa ve sola çekilerek ekim yapılmıştır. Ardından besiyeri 60^o çevrilmiş, aynı işlem iki kere tekrarlanmıştır. Zigzaglar arasında mesafe bulunmamasına ve ekimlerin homojen yapılmasına dikkat edilmiştir.

Çizelge 3. 6. Çalışılan antibiyotikler ve sınır değerleri (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

Antibiyotik	CLSI Grup	Grup	Disk İçeriği (µg)	Duyarlı (mm) (S)	Orta Duyarlı (mm) (I)	Dirençli (mm) (R)
Ampisilin	A	Penisilin	10	≥17	14 – 16	≤13
Amoksisilin/ Klavulonik Asit	B	β – laktam/ β – laktamaz İnhibitör Kombinasyonu	20/10	≥18	14 – 17	≤13
Amikasin	B	Aminoglikozit	30	≥17	15 - 16	≤14
Fosfomisin	-	Fosfomisin	200	≥16	13 - 15	≤12
Gentamisin	A	Aminoglikozit	10	≥15	13 - 14	≤12
İmipenem	B	Karbapenem	10	≥23	22 - 20	≤19
Nalidiksik Asit	-	Kinolon	30	≥19	14 - 18	≤13
Nitrofrantoin	U	Nitrofuran	300	≥17	15 - 16	≤14
Norfloksasin	U	Florokinolon	10	≥17	13 - 16	≤12
Sefazolin	A	1. Kuşak Sefalosporin	30	≥23	20 - 22	≤19
Sefuroksim (Oral)	B	2. Kuşak Sefalosporin	30	≥23	15 - 22	≤14
Seftriakson*	B	3. Kuşak Sefalosporin	30	≥23	20 - 22	≤19
Sefotaksim**	B	3. Kuşak Sefalosporin	30	≥26	23 - 25	≤22
Siprofloksasin	B	Florokinolon	5	≥21	16 - 20	≤15
Tetrasiklin	C	Tetrasiklin	30	≥15	12 - 14	≤11
Trimetoprim/ Sulfametoksazol	B	Sulfanomid	1.25/ 23.75	≥16	11 - 15	≤10

Seftriakson* zonu ≤ 25 mm ve Sefotaksim** zonu ≤ 27 olan izolatlar, Genişlemiş Spekturumlu Beta – Laktamaz (GSBL) üretimi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

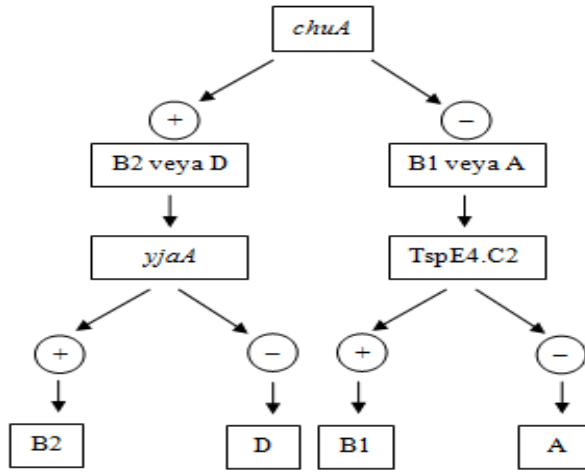
Ekim işleminin ardından, penset vasıtası ile aseptik şartlar altında diskler besiyerine bırakılmıştır. Her disk değişiminde penset %70' lik etil alkolden geçirilip bek alevinde yakılarak dekontamine edilmiştir. Her petri kutusuna en fazla 5 adet antibiyotik diski koyulmuştur. Antibiyotik diskleri ilave edildikten sonra, petri kutuları 37 ± 2 °C' de, 24 ± 2 saat inkübe edilmiştir. Kontrol olarak, *E. coli* ATCC 25922 (ATCC, ABD) kullanılmıştır. ATCC kökeninin duyarlılık sınırları beklenen değerler içerisinde ise test okunmuştur (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

İnkübasyon süresi sonunda, zon çapları cetvel yardımı ile milimetre cinsinde ölçülmüştür. Eğer iç zon mevcut ise değerlendirmede iç zon kullanılmıştır. Zon içerisinde tek düşen koloni var ise kontaminasyon olarak değerlendirilerek antibiyogram tekrarlanmıştır. Tekrarlanan antibiyogramda da zon içi koloni gözlemlendiği takdirde, koloni dirençli kabul edilip içte olan koloniye göre zon çapı ölçülmüştür.

Farklı antibiyotik gruplarını temsil eden ampisilin, sefuroksim, gentamisin, SXT ve siprofloksasin farklı kimyasal özellikteki antibiyotikleri temsil ettikleri için çoklu direnç skorunun belirlenmesi amacıyla seçilmişlerdir. Antibiyotiklerin her biri 1 puan olarak değerlendirilmiş, puanı 3 ve üzeri olan izolatlar çoklu direnç olarak kabul edilmiştir (Cooke et al., 2010; Johnson et al., 2004).

3. 6. 4. Filogenetik Grupların Belirlenmesi

Filogenetik gruplar, çoklu PZT vasıtası ile belirlenmiştir. Gruplamada *chuA*, *yjaA* genleri ve DNA parçası olan TSPE4.C2 kullanılmıştır. İzolatların hangi filogenetik gruba ait olduğunu belirlemek için dikotomöz karar ağacı (Şekil 3. 1.) kullanılmıştır (Clermont et al., 2000).



Şekil 3. 1. Dikotomöz karar ağacı (Clermont et al., 2000).

Her filogenetik grup için iki ihtimal mevcuttur. A grubu *chuA* negatif, *yjaA* pozitif veya negatif, TSPE4.C2 negatif; B1 grubu *chuA* negatif, *yjaA* pozitif veya negatif, TSPE4.C2 pozitif; B2 grubu *chuA* pozitif, *yjaA* pozitif, TSPE4.C2 pozitif veya negatif; D grubu *chuA* pozitif, *yjaA* negatif, TSPE4.C2 pozitif veya negatif olarak tanımlanmıştır.

Yapılması planlanan filogenetik gruplama, Çizelge 3. 7. ' de gösterilmiştir (Gordon et al., 2008; Iebba et al., 2012).

Çizelge 3. 7. Genlere göre filogenetik gruplama.

Grup	Genler		
	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TSPE4.C2
A	-	-	-
	-	+	-
B1	-	-	+
	-	+	+
B2	+	+	-
	+	+	+
D	+	-	-
	+	-	+

PZT' nde kullanılması planlanan *chuA* ve *yjaA* genleri için tasarlanan primer çifti dizileri, daha önceki bir çalışmadan alınmıştır (Clermont et al., 2000). TSPE4.C2 DNA parçası için tasarlanan primer çifti ise farklı bir çalışmadan alınmıştır (Pitout et al., 2005). Kullanılması planlanan primer çifti dizileri, erime sıcaklığı (T_m) ve moleküler ağırlıkları Çizelge 3. 8.' de verilmiştir.

Çizelge 3. 8. Primer dizileri, moleküler ağırlıkları ve kaynakları.

Genin Adı	Primer Çifti	Primer Dizisi	Erime Sıcaklığı (T _m) (°C)	Moleküler Ağırlık (bç)
<i>ChuA</i>	ChuA F	GACGAACCAACGGTCAGGAT	57.5	279
	ChuA R	TGCCGCCAGTACCAAAGACA	57.7	
<i>YjaA</i>	YjaA F	TGAAGTGTCAGGAGACGCTG	59.4	211
	YjaA R	ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC	57.9	
TspE4.C2	TspE4C2 II F	AGTAATGTCTGGGGCATTTCAG	57.3	151
	TspE4C2 II R	TCGCGCCAACAAAGTATTACG	57.9	

Liyofilize halde gelen her bir primer dizisi (Ella Biotech, Almanya), firmanın önerdiği miktarda steril saf su ilave edilerek sulandırılmıştır. Böylece, 100 µM' lık stok primer çözeltileri elde edilmiştir.

Kullanılan PZT karışımı, daha önceki bir çalışmadan alınmış ve toplam 25 µl' lik tepkime için yeniden hesaplanmıştır (Clermont et al., 2000). MgCl₂, Taq DNA Polimeraz ve dNTP konsantrasyonları optimize edilmiştir. Tepkimede 10X Hot Start Buffer (Thermo Scientific, ABD), MgCl₂ (Thermo Scientific, ABD), dNTP (Thermo Scientific, ABD)

Maxima Hot Start Taq DNA Polimerase (Thermo Scientific, ABD), primer çiftleri ve kalıp DNA kullanılmıştır. PZT karışımının içeriği, çalışma konsantrasyonu, stok konsantrasyonu ve her örnek için alınması gereken miktar Çizelge 3. 9. 'da gösterilmiştir.

Çizelge 3. 9. Filogenetik gruplama için yapılan PZT' de kullanılan konsantrasyonlar.

Reaktifler	Stok Konsantrasyon	Her örnek için	Çalışma Konsantrasyonu
Hot Start Tampon (10X)	10 X	2.5 µl	1.0 X
MgCl₂	25 mM	3.0 µl	3.0 mM
dNTP karışımı	2.5mM	2.0 µl	0.2 mM
Hot Start Taq DNA Polimeraz	5 U/ µl	0.25 µl	1.25 U
Primer (her birinden)	100 µM	0.25 µl	1.0 µM
Steril Saf Su	-	13.75 µl	-
Toplam		23 µl	

Çalışmada, Taq DNA Polimeraz eklenmeden 50' şer örnek için karışım oluşturulmuş ve -20 °C' de çalışılana kadar saklanmıştır. Böylelikle, primer stoklarının ve dNTP stoklarının dondurulup çözülme sayısının azaltılması planlanmıştır.

Toplam 50 örneklik PZT karışımı için 1.5 ml' lik steril mikrosantrifüj tüpü içerisine 687.5 µl steril saf su ilave edilmiştir. 100 µM' lik her primer çözeltilerinden 12.5 µl alınmış, mikrosantrifüj tüpü içerisine eklenmiştir. Üzerine sırası ile 125 µl 10X Hot Start Tampon, 150 µl MgCl₂, 100 µl dNTP karışımı ilave edilmiştir. Çalışma yapılacağı zaman ise stok çözülmüş ve içerisine 12.5 µl Hot Start Taq DNA Polimeraz ilave edilmiştir (Çizelge 3. 10.).

Çizelge 3. 10. Filogenetik gruplama için yapılan PZT' de bir ve 50 örnek için gerekli reaktifler.

Reaktifler	Bir örnek için	50 örnek için
Hot Start Tampon (10X)	2.5 µl	125 µl
MgCl₂	3.0 µl	150 µl
dNTP karışımı	2.0 µl	100 µl
Hot Start Taq DNA Polimeraz	0.25 µl	12.5 µl
Primer (her birinden)	0.25 µl	12.5 µl
Steril Saf Su	13.75 µl	687.5 µl
Toplam	23 µl	1150 µl

Steril 200 µl' lik mikrosantrifüj tüpleri etiketlenmiş ve içerilerine 23 µl' lik PZT karışımı ilave edilmiştir. Karışımın üzerine, kalıp DNA ilave edilmiştir. Pipetaj hatasını

engellemek için 48 tepkime aynı anda çalışılmıştır. Çapraz kontaminasyondan kaçınmak için aynı anda en fazla 2 adet tüpün kapağı açık kalmıştır.

Gerçekleştirilen her tepkimedede, iki adet tüm genler için pozitif kontrol ve bir adet DNA ilave edilmemiş karışım kontrolü kullanılmıştır. Kullanılan pozitif kontroller V27 ve *E. coli* ATCC 25922' dir (Higgins et al., 2007; Johnson and Stell, 2000). Kontrol kökeni V27' nin DNA'sı, Dr. James R. JOHNSON (Minneapolis, MN, ABD)' tarafından nazikçe hediye edilmiştir. *E. coli* ATCC 25922' nin DNA'sı ise hasta örnekleriyle beraber izole edilmiştir.

Tepkime döngüleri, spesifik bantların görülmemesinden dolayı, referans tepkime döngülerinden farklılık göstermektedir (Clermont et al., 2000). Aynı zamanda, farklı yayınlarda B2 filogenetik grubuna ait olduğu belirtilen *E. coli* ATCC 25922' den verilen referans döngüleri ile ürün elde edilemediği görülmüştür (Higgins et al., 2007). Ayrıca, Higgins ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kullanılan PZT karışımı 50 µl' liktir. Bu nedenle iki basamaklı olan PZT döngüsü, uzama sıcaklığı ile üç basamaklı olarak optimize edilmiştir.

Tepkime iCycler (BioRad, ABD) marka thermal cycler' da gerçekleştirilmiştir. Döngüler sırası ile 95 °C' de 4 dakika aktivasyon; 30 siklus 94 °C' de 30 saniye denatürasyon, 57 °C' de 30 saniye tavlama, 72 °C' de 30 saniye uzama; 72 °C' de 7 dakika son uzama; 4 °C' de sınırsız bekletme şeklinde optimize edilmiştir.

Oluşan ürünlerin gözlemlenmesi için yatay jel elektroforezi kullanılmıştır, elektroforez için Tris – Borik asit – EDTA (TBE) tamponu içerisinde %2' lik agaroz jel hazırlanmıştır (Bartlett and Stirling, 2003). Temiz bir erlen içerisinde 25 ml 0.5X TBE tamponu içerisine 0.6 g agaroz (AppliChem, Almanya) ilave edilmiştir. Üzerine, 30 ml' ye tamamlayacak şekilde 0.5X TBE tamponu ilave edilmiştir. Erlen, bu hali ile tartılmış, mikrodalga fırında agaroz tamamen eriyinceye kadar ısıtılmıştır. Işığı kıran parçacık görülmediği zaman ısıtma işlemine son verilmiştir. Erlen tekrar tartılmış ve ilk tartımdan eksilen miktar saf su ile tamamlanmıştır. Böylelikle, buharlaşan suyun jelin oranını değiştirmesi engellenmiştir.

Jel sıcaklığı yaklaşık 50 – 55 °C' ye düştüğünde, içerisine 10 mg/ml' lik stok Etidyum Bromür solusyonundan % 0.5 µg/ml olacak şekilde ilave edilmiştir. Elektroforez yatağına taraklar takılmış, agaroz polimerize olmadan elektroforez yatağına alınmış ve yaklaşık 30 dakika polimerizasyona bırakılmıştır.

Polimerizasyon sonunda taraklar çıkarılmış, jel yatak ile birlikte tanka (Thermo Scientific, ABD) alınmıştır.

Jelin üzeri kapanacak şekilde yaklaşık 1 mm 0.5X TBE tamponu ilave edilmiştir. Yükleme için, plastik petri kutusunda her örnek ve kontroller 6X DNA Loading Dye (Thermo Scientific, ABD) ile PZT ürünü karıştırılmıştır. Karıştırma oranı 1 µl boyaya 5 µl üründür. Ardından boya ile stok halinde karıştırılmış GeneRuler 50 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, ABD) ilk ve son kuyucuklara yüklenmiştir. 8 V/cm ile 40 dakikada elektroforez gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, GeneLine ImageSCI (Spectronics Corp., ABD) jel görüntüleme sisteminde değerlendirilmiştir.

3. 6. 5. Adezin Virülans Genlerinin Belirlenmesi

Adezin virülans genleri, çoklu PZT yöntemi ile belirlenmiştir. Virülans genlerinin belirlenmesi için yapılan PZT' de kullanılan genlerin primer dizileri, Tm değeri ve moleküler ağırlıkları, Çizelge 3. 11.' de gösterilmiştir.

Liyofilize halde gelen her bir primer dizisi (Ella Biotech, Almanya), firmanın önerdiği miktarda steril saf su ilave edilerek sulandırılmıştır. Böylece, 100 µM' lık stok primer çözeltileri elde edilmiştir. Elde edilen 100 µM' lık primer çözeltilerinden 10 µl, 90 µl steril saf su içerisine alınmıştır. Böylelikle 10 µM' lık çalışma konsantrasyonları oluşturulmuştur.

Kullanılan çoklu PZT yönteminde, maliyeti düşürmek amacı ile primer çiftlerinden havuzlar oluşturulmuştur. Her havuzda 2 adet primer çifti bulunmaktadır. Havuz 1' de *papAH* ve *fimH*; havuz 2' de *bmaE* ve *sfa/focDE*; havuz 3' de *focG* ve *gafD*; havuz 4' de ise *afa/draBC* ve *iha* genleri için tasarlanmış primer çiftleri bulunmaktadır (Johnson and Stell, 2000).

Kullanılan PZT karışımı, daha önceki bir çalışmadan alınmıştır (Johnson and Stell, 2000). Tepkime toplam 25 µl' lik karışımda gerçekleştirilmiştir. Tepkimedede, filogenetik gruplama ile aynı marka ve nitelikte reaktifler kullanılmıştır. PZT karışımının içeriği, çalışma konsantrasyonu, stok konsantrasyonu ve her örnek için alınması gereken miktar Çizelge 3. 12.' de verilmiştir.

Çizelge 3. 11. Virülans genlerinin belirlenmesi için yapılan PZT’ de kullanılan primer dizileri, Tm değerleri ve moleküler ağırlıkları (Johnson and Stell, 2000; Johnson et al., 2000a; Skjot-Rasmussen et al., 2012).

Primer Çifti	Primer Dizisi	Tm (°C)	Moleküler Ağırlık (bp)
<i>papAH</i> F	ATGGCAGTGGTGTCTTTTGGTG	60.3	720
<i>papAH</i> R	CGTCCCACCATACGTGCTCTTC	64.0	
<i>fimH</i> F	TCGAGAACGGATAAGCCGTGG	61.8	508
<i>fimH</i> R	GCAGTCACCTGCCCTCCG GTA	65.7	
<i>focG</i> F	CAGCACAGGCAGTGG ATACGA	61.8	360
<i>focG</i> R	GAATGTCGCCTGCCCATTGCT	61.8	
<i>gafD</i> F	TGTTGGACCGTCTCAGGGCTC	63.7	952
<i>gafD</i> R	CTCCCGGAACTCGCTGTTACT	61.8	
<i>sfa/focDE</i> F	CTCCGGGAACTGGGTGCATCTTAC	66.3	410
<i>sfa/focDE</i> R	CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA	63.0	
<i>iha</i> F	CTGGCGAGGCTCTGAGATCA	63.7	829
<i>iha</i> R	TCCTTAAGCTCCCGCGGCTGA	63.7	
<i>afa/draBC</i> F	GGCAGAGGGCCGGCAACAGGC	69.6	594
<i>afa/draBC</i> R	CCCGTAACGCGCCAGCATCTC	65.7	
<i>bmaE</i> F	ATGGCGCTAACTTGCCATGCTG	62.1	507
<i>bmaE</i> R	AGGGGGACATATAGCCCCCTTC	64.0	

Çizelge 3. 12. Virülans genlerinin belirlenmesi için yapılan PZT’ de kullanılan konsantrasyonlar.

Reaktifler	Stok Konsantrasyon	Her örnek için	Çalışma Konsantrasyonu
Hot Start Tampon (10X)	10 X	2.5 µl	1.0 X
MgCl₂	25 mM	4.0 µl	4.0 mM
dNTP karışımı	2.5mM	2.0 µl	0.2 mM
Hot Start Taq DNA Polimeraz	5 U/ µl	0.25 µl	1.25 U
Primer (her birinden)	10 µM	1.5 µl	0.6 µM
Steril Saf Su	-	8.25 µl	-
Toplam		23 µl	

Çalışmada, filogenetik gruplamadakine benzer şekilde Taq DNA Polimeraz eklenmeden 50' şer örnek için karışım oluşturulmuş ve -20 °C' de çalışılana kadar saklanmıştır.

Toplam 50 örneklilik PZT karışımı için 1.5 ml' lik steril mikrosantrifüj tüpü içerisine 412.5 µl steril saf su ilave edilmiştir. 10 µM' lık her primer çözeltisinden 75 µl alınmış, su içerisine eklenmiştir. Üzerine sırası ile 125 µl 10X Hot Start Tampon, 200 µl MgCl₂, 100 µl dNTP karışımı ilave edilmiştir. Çalışma yapılacağı zaman ise stok çözülmüş ve içerisine 12.5 µl Hot Start Taq DNA Polimeraz ilave edilmiştir (Çizelge 3. 13.).

Çizelge 3. 13. Virülans genleri tayini için yapılan PZT' de bir ve 50 örnek için gerekli reaktifler.

Reaktifler	Bir örnek için	50 örnek için
Hot Start Tampon (10X)	2.5 µl	125 µl
MgCl₂	3.0 µl	200 µl
dNTP karışımı	2.0 µl	100 µl
Taq DNA Polimeraz	0.25 µl	12.5 µl
Primer (her birinden)	0.25 µl	75 µl
Steril Saf Su	13.75 µl	412.5 µl
Toplam	23 µl	1150 µl

Steril 200 µl' lik mikrosantrifüj tüpleri etiketlenmiş ve içerilerine 23 µl' lik PZT karışımı ilave edilmiştir. Karışımın üzerine, kalıp DNA ilave edilmiştir. Pipetaj hatasını engellemek için 48 tepkime aynı anda çalışılmıştır. Çapraz kontaminasyondan kaçınmak için aynı anda en fazla 2 adet tüpün kapağı açık kalmıştır.

Kullanılan pozitif kontroller V 27, 2H16 ve PM9' dur (Johnson and Stell, 2000). Kontrol kökenlerin DNA'sı, Dr. James R. JOHNSON (Minneapolis, MN, ABD)' tarafından nazikçe hediye edilmiştir.

Tepkime, iCycler (BioRad, ABD) marka thermal cycler' da gerçekleştirilmiştir. Her havuz için aynı tepkime döngülerinin kullanılması planlanmıştır. Havuz 4' de spesifik olmayan bantların görülmesinden dolayı, PZT şartları optimize edilmiştir. Olması gerekenden yüksekte ve alçakta bantlar görülmüştür. Beklenen baz çiftinden yüksekteki bantları elemine etmek için 68 °C' de 3 dakika olan uzama, 72 °C' de 30 saniye olarak değiştirilmiştir. Beklenen baz çiftinden alçaktaki bantlar ise tavlama sıcaklığını 63 °C' den 65 °C' ye çıkartılarak elemine edilmiştir (Bartlett and Stirling, 2003). Tepkime döngüleri, Çizelge 3. 14.' de gösterilmiştir.

Çizelge 3. 14. Virülans genleri için yapılan PZT için tepkime döngüleri (Johnson and Stell, 2000).

		Havuz 1, 2 ve 3	Havuz 4
28 Siklus	Aktivasyon	95 °C, 12 dakika	95 °C, 12 dakika
	Denatürasyon	94 °C, 30 saniye	94 °C, 30 saniye
	Tavlama	63 °C, 30 saniye	65 °C, 30 saniye
	Uzama	68 °C, 3 dakika	72 °C, 30 saniye
	Son Uzama	72 °C, 10 dakika	72 °C, 10 dakika

Yatay jel elektroforezi, filogenetik gruplamada gerçekleştirilen elektroforez ile aynı şartlar altında gerçekleştirilmiştir.

3. 6. 6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için, IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corporation, ABD) programı kullanılmıştır. Bağımsız ve sınıflanmış veriler için ki – kare bağımsızlık testi kullanılmıştır; beklenen değerler 5' in altında ise Fisher' in kesin olasılık testi (çift – kuyruk) uygulanmıştır. P – değeri 0.05' in altında olan analizler, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Elde edilen veriler parametrik olmadığından iki bağımsız grubun, belirli bir değişkene ait ortalamalarını karşılaştırmak için, Mann – Whitney U testi; grup sayısı ikiden fazla ise, Kruskal – Wallis H testi kullanılmıştır.

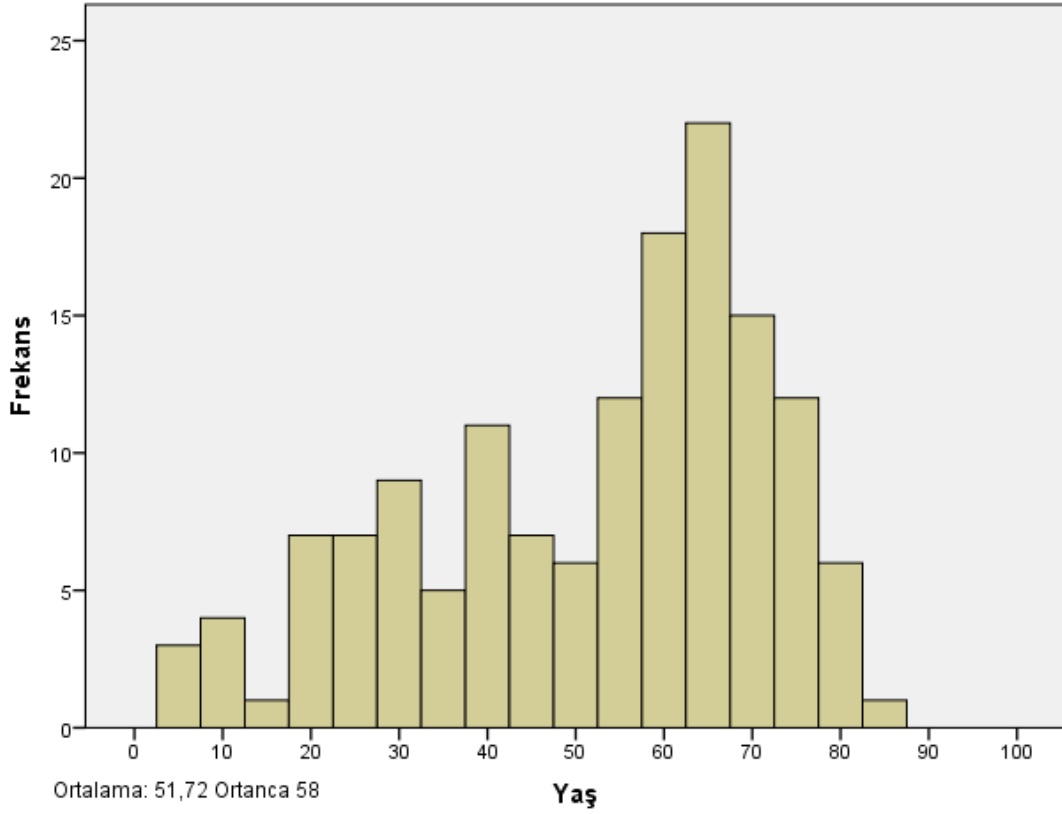
Kruskal – Wallis H testi yapıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark Bonferroni düzeltmesi ile belirlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunması halinde, farkın hangi gruptan kaynaklandığının araştırması, Mann – Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4. 1. Hasta Verileri

Çalışmaya, bilgilerine ulaşılabilen 146 hastadan izole edilen örnekler alınmıştır. Çalışılan örneklerin 78 tanesi çeşitli polikliniklerden (acil, 8; çocuk nefroloji, 2; dahiliye, 1; endokrinoloji, 1; enfeksiyon hastalıkları, 12; fizik tedavi ve rehabilitasyon, 2; gastroenteroloji, 2; hematoloji, 1; kadın doğum, 18; kardiyoloji, 1; nefroloji, 8; nöroloji, 6 ve üroloji, 16); 68 tanesi ise çeşitli servislerde (çocuk sağlığı ve hastalıkları, 1; dermatoloji, 1; endokrinoloji, 6; enfeksiyon hastaları, 8; fizik tedavi ve rehabilitasyon, 11; gastroenteroloji, 2; genel cerrahi, 2; göğüs hastalıkları, 1; hematoloji, 7; kardiyoloji, 1; nefroloji, 8; onkoloji, 4; psikiyatri, 1; radyasyon onkolojisi, 4; romatoloji, 1; üroloji, 9 ve yoğun bakım, 1) yatan hastalardan izole edilmiştir. Hastalardan 3 tanesinde polimikrobiyal enfeksiyon belirlenmiştir.

Hastaların 97 (% 66,4)' si kadın; 49 (% 33,6)' u erkektir. Minimum yaş 5, maksimum yaş ise 84' tür. Ortalama yaş 51,72; ortanca ise 58 olarak hesaplanmıştır. Hastaların 11 (% 7,5)' i 18 yaş ve altı; 86 (% 58,9)' sı 19 – 64 yaş arası; 49 (% 33,6)' u 65 yaş ve üzerindeki yaş gruplarına aittir. Yaş, normal dağılıma uygunluk göstermemektedir. Şekil 4. 1.' de yaş için verilen grafik mevcuttur.



Şekil 4. 1. Hastaların yaşı için oluşturulan histogram.

Elde edilen veriler doğrultusunda, 92 (% 63) hastanın enfeksiyonu toplum kökenli; 54 (% 37) hastanın enfeksiyonu hastane kökenli olarak belirlenmiştir.

Enfeksiyonun yeri ele alındığında, 97 (% 66,4) hastanın sistit, 49 (% 33,6) hastanın ise piyelonefrit geçirdiği gözlemlenmiştir.

Komplikasyon açısından değerlendirildiğinde ise 112 (% 76,7) hasta komplike, 34 (% 23,3) hasta ise komplike değildir. Elde edilen hasta verilerinin erkek ve kadınlara göre dağılımı, Çizelge 4. 1.' de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 1. Hasta verilerinin cinsiyete göre dağılımı.

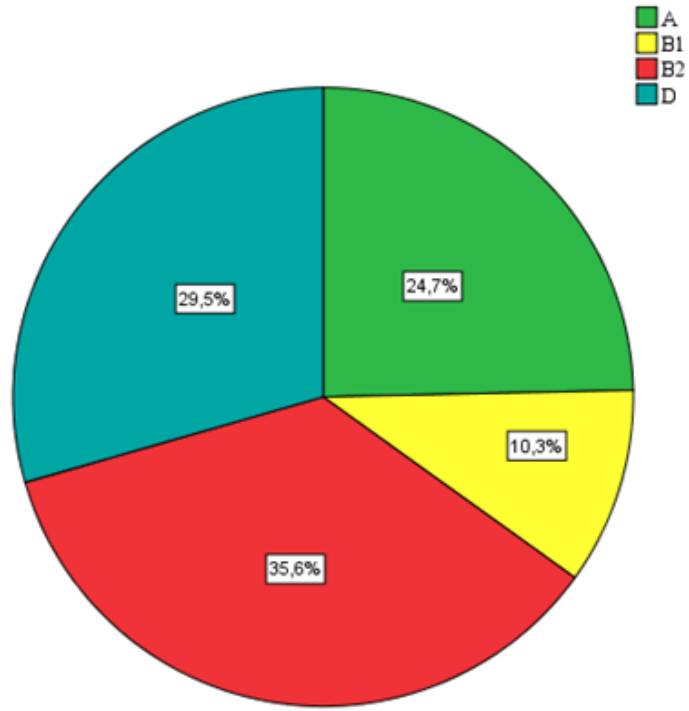
Cinsiyet	Yaş			n (%)					
	0-18	19-64	65 Üzeri	Sistit n=97	Piyelonefrit n= 49	Hastane n= 54	Toplum n= 96	Komplike n= 112	Komplike Olmayan n= 34
Erkek n= 49	3 (6,1)	24 (49)	22 (44,9)	27 (55,1)	22 (44,9)	23 (46,9)	26 (53,1)	49 (100)	0 (0)
Kadın n= 97	8 (8,2)	62 (63,9)	27 (27,8)	70 (72,2)	27 (27,8)	31 (32)	66 (68)	63 (64,9)	34 (35,1)

4. 2. Filogenetik Gruplama

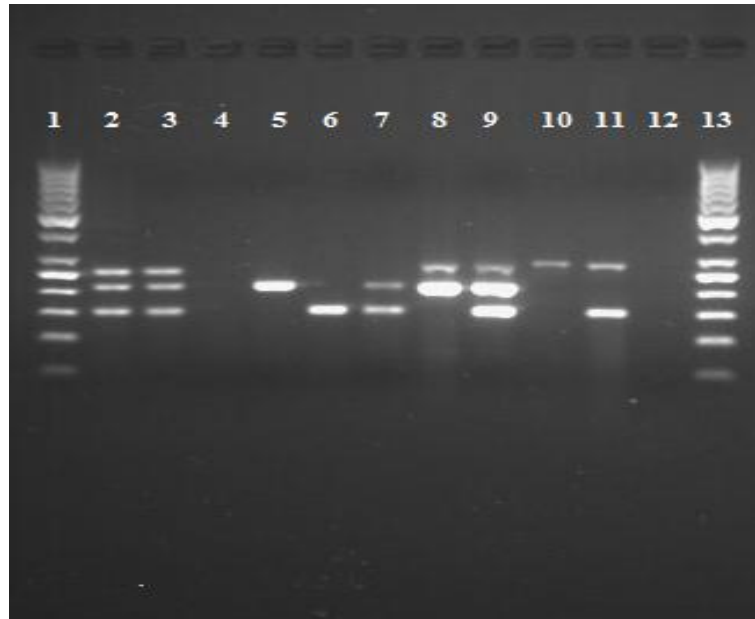
Yapılan filogenetik grulamada bütün örnekler tiplendirilebilmiştir. İzolatların 36'sı A; 15'i B1; 52'si B2 ve 43'ü D filogenetik grubuna ait olarak belirlenmiştir. Elektroforez sonucu gözlemlenen genlerin oranları ve filogenetik grup oranları Çizelge 4. 2.' de, filogenetik gruplara ait pasta grafiği Şekil 4. 2.' de verilmiştir. Çizelge 4. 3.' de genlere ait jel görüntüleri verilmiştir.

Çizelge 4. 2. Genler ve filogenetik grup oranları.

Filogenetik Grup	<i>chuA</i>	<i>yjaA</i>	TSPE4.C2	Örnek Sayısı (n)	Yüzde (%)	Örnek Sayısı (n= 146)	Yüzde (%)
A	-	-	-	4	2,7	36	24,7
	-	+	-	32	21,9		
B1	-	-	+	6	4,1	15	10,3
	-	+	+	9	6,2		
B2	+	+	-	5	3,4	52	35,6
	+	+	+	47	32,2		
D	+	-	-	19	13,0	43	29,5
	+	-	+	24	16,4		



Şekil 4. 2. Filogenetik gruplara ait pasta grafik (n = 146).



Şekil 4. 3. Filogenetik gruplara ait jel görüntüsü. 1, 50 bp Marker; 2, V27; 3, ATCC 25922; 4, negatif kontrol; 5, A grubu; 6 ve 7, B1 grubu; 8 ve 9, B2 grubu; 10 ve 11 D grubu; 12, A grubu; 13 50 bp Marker.

4. 3. Virülans Genleri

Çalışılan adezin virülans genlerinin pozitif görülme sıklığı sırası ile *fimH* (% 97,3); *iha* (% 37,7); *papAH* (%21,2); *sfa/focDE* (% 15,8); *afa/draBC* (% 9,6); *focG* (% 8,9); *gafD* (% 1,4) ve *bmaE* (% 0,7)' dir. Virülans genlerinin görülme sıklığı Çizelge 4. 3.' de, jel görüntüleri ise Şekil 4. 4.' de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 3. Virülans genlerinin görülme sıklığı.

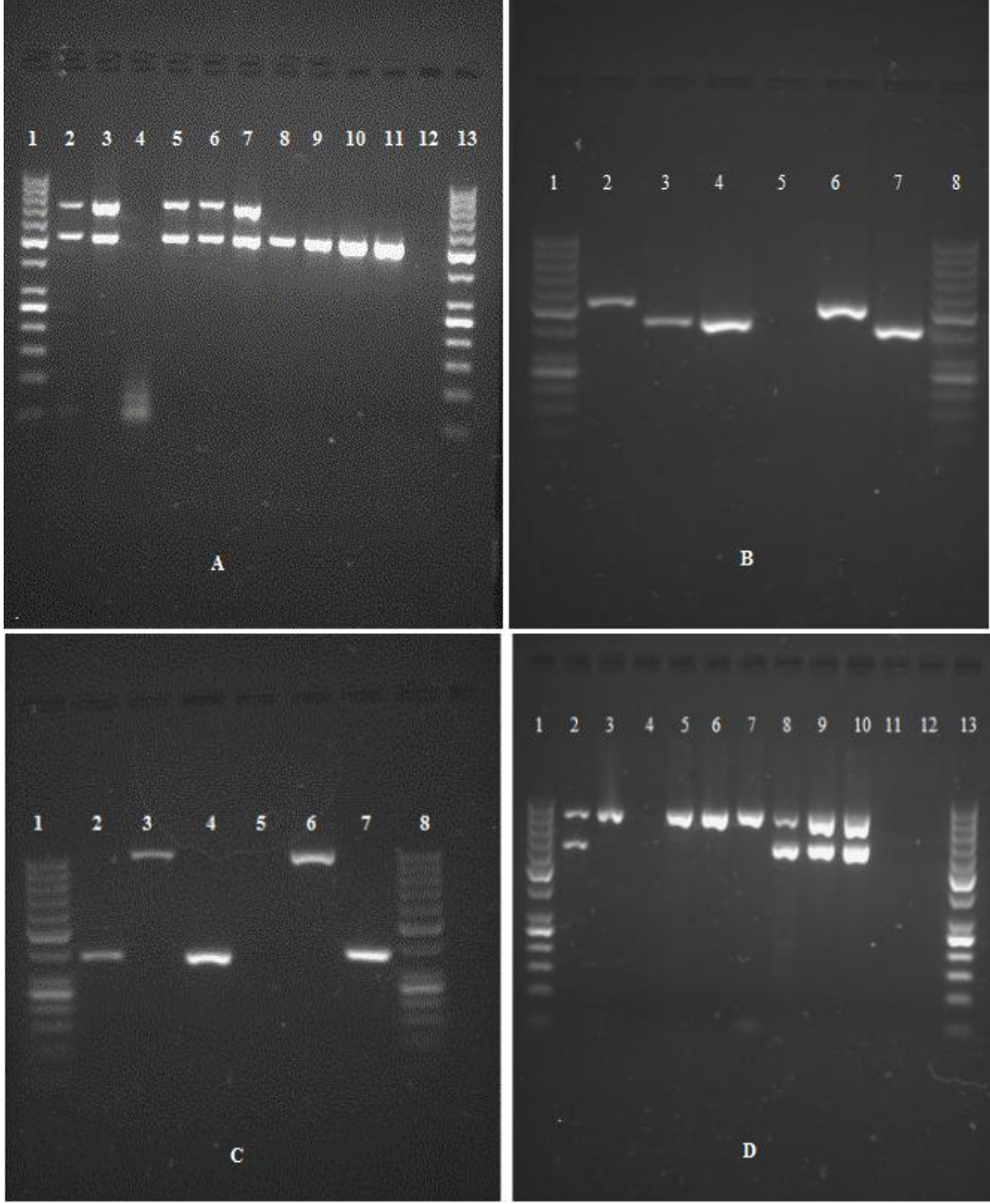
Genler	<i>fimH</i>	<i>iha</i>	<i>papAH</i>	<i>sfa/ focDE</i>	<i>afa/ draBC</i>	<i>focG</i>	<i>gafD</i>	<i>bmaE</i>
Pozitif Örnek	142	55	31	23	14	13	2	1
%	97,3	37,7	21,2	15,8	9,6	8,9	1,4	0,7

papAH geninin tek başına görüldüğü bir örnek yoktur; *papAH* genine sahip bütün örnekler, *fimH* genine de sahiptir. Benzer bir şekilde, *fimH* genine sahip olmayan örnekler, *papAH* genine de sahip değildir.

İzolatlardan bir tanesi *bmaE* genine sahiptir ve bu izolat çocuk olan toplum kökenli bir komplike piyelonefrit hastasından izole edilmiştir.

Virülans genlerinin birbirleri ile ilişkileri incelendiği zaman, bazı virülans genleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki belirlenmiştir *papAH* ile *sfa/focDE* ve *gafD* arasında; *bmaE* ile *gafD* arasında; *sfa/focDE* ile *focG* arasında ve *iha* ile *afa/draBC* arasında birbirlerinin sıklığı ile artış tespit edilmiştir. *fimH* pozitifliği ile diğer genler arasında anlamlı bir korelasyon belirlenmemiştir.

sfa/focDE pozitif olan izolatlarda, *papAH* pozitifliği anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Toplam 123 *sfa/focDE* negatif örneğin, 22 (% 17,9) tanesi *papAH* pozitif; 23 *sfa/focDE* pozitif örneğin ise 9 (%39,1) tanesi *papAH* pozitifdir ($P = 0,048$).



Şekil 4. 4. Adezin virülans genlerine ait örnek jel görüntüleri.

A. Havuz 1 1, 50 bp Marker; 2 2H16; 3 ATCC 25922; 4, negatif kontrol; 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 hasta örnekleri; 13, 50 bp Marker.

B. Havuz 2 1, 50 bp Marker; 2, Pm9; 3, V27; 4; ATCC 25922; 5, negatif kontrol; 6, 7, hasta örnekleri; 8, 50 bp Marker.

C. Havuz 3 1, 50 bp Marker; 2, Pm9; 3, V27; 4, ATCC 25922; 5, negatif kontrol; 6, 7, hasta örnekleri; 8, 50 bp Marker.

D. Havuz 4 1, 50 bp Marker; 2 2H16; 3, ATCC 25922; 4, negatif kontrol; 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 hasta örnekleri; 13, 50 bp Marker.

papAH pozitif olan izolatlarda, *gafD* pozitifliği anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Toplam 144 *gafD* negatif örneğin 29 (% 20,1) tanesi *papAH* pozitif; 2 *gafD* pozitif örneğin ise 2'si (% 100) de *papAH* pozitifdir ($P = 0,044$).

gafD pozitif olan izolatlarda, *bmaE* pozitifliği anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Toplam 144 *gafD* negatif örneğin hiç birisi (% 0) *bmaE* pozitif değilken; toplam 2 *gafD* pozitif örneğin 1 (% 50) tanesi *bmaE* pozitifdir ($P = 0,014$)

focG pozitif izolatlarda, *sfa/focDE* pozitifliği anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Toplam 133 *focG* negatif örneğin 10 (% 7,5) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 13 *focG* pozitif örneğin ise hepsi (% 100) *sfa/focDE* pozitifdir ($P = 0,000$).

Benzer bir şekilde, *afa/draBC* pozitif olan izolatlarda, *iha* pozitifliği anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Toplam 91 *iha* negatif örneğin 2 (% 2,2) tanesi *afa/draBC* pozitif; 55 *iha* pozitif örneğin ise 12 (% 21,8) tanesi ise *afa/draBC* pozitifdir ($P = 0,000$). Elde edilen istatistiksel verilerin P değerleri, Çizelge 4. 4.' de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 4. Virülans genlerinin birbirleri ile ilişkileri.

	<i>papAH</i>	<i>fimH</i>	<i>bmaE</i>	<i>sfa/focDE</i>	<i>gafD</i>	<i>focG</i>	<i>afa/draBC</i>	<i>iha</i>
<i>papAH</i>	k							
<i>fimH</i>	>0,05	k						
<i>bmaE</i>	>0,05	>0,05	k					
<i>sfa/focDE</i>	^a 0,048	>0,05	>0,05	k				
<i>gafD</i>	^a 0,044	>0,05	^a 0,014	>0,05	k			
<i>focG</i>	>0,05	>0,05	>0,05	^a 0,000	>0,05	k		
<i>afa/draBC</i>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	k	
<i>iha</i>	*>0,05	>0,05	>0,05	*>0,05	>0,05	>0,05	^a 0,000	k

* ile işaretli örneklere Pearson Ki – kare testi; geriye kalan örneklere Fisher' in kesin olasılık testi uygulanmıştır;

^a, $P \leq 0,050$ (istatistiksel olarak anlamlı veriler);

k, kendisi ile korelasyon uygulanamaz

4. 4. Virülans Skoru

Organizmanın sahip olduğu virülans genlerinin toplam sayısı, virülans skoru olarak değerlendirilmiştir (Ejrnaes et al., 2011; Johnson et al., 2005a). Filogenetik grupta kullanılan genler, virülans skorlamasına dahil edilmemiştir.

Elde edilen virülans skoru, araştırılan 8 gen için minimum 0, maksimum 5' dir. Ortalama 1,917; ortanca ise 2' dir. Çizelge 4. 5.' de virülans skorlarına ait frekanslar gösterilmiştir.

Çizelge 4. 5. Virülans skorlarına ait frekanslar.

Toplam Gen Sayısı	Frekans (n=146)	%
0	3	2,1
1	61	41,8
2	40	27,4
3	31	21,2
4	9	6,2
5	2	1,3
6	-	-
7	-	-
8	-	-

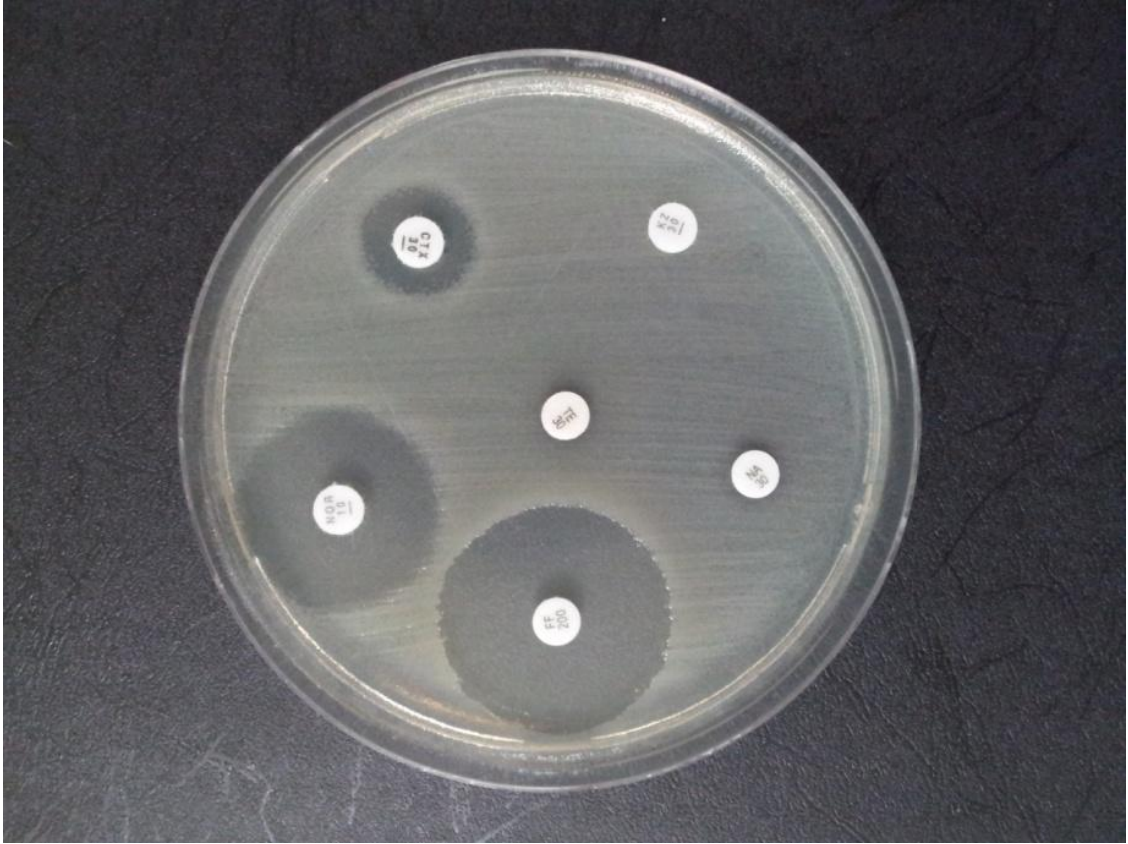
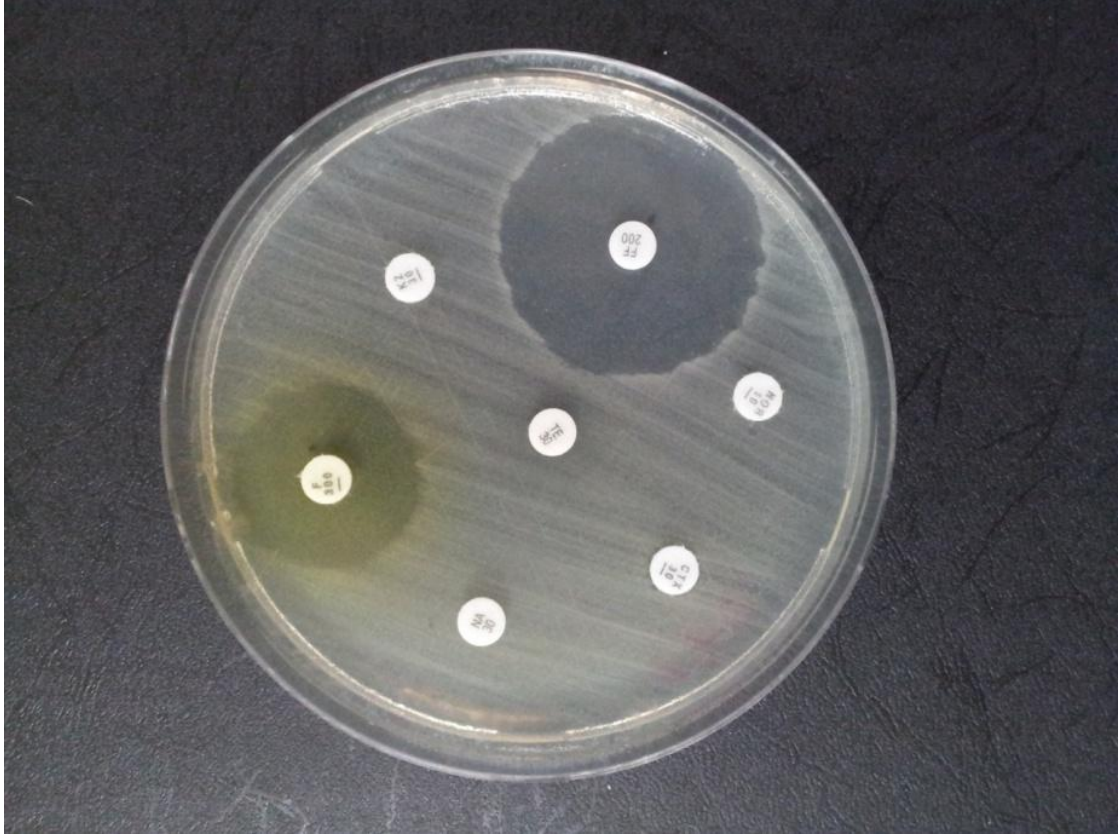
4. 5. Antibiyotik Dirençleri

Çalışmada, orta duyarlı izolatlar dirençli olarak kabul edilmiştir. Direnç görülme sıklığı sırası ile sefazolin (% 71,2), ampisilin (% 69,9), nalidiksik asit (% 59,6), siprofloksasin (% 52,1), norfloksasin (% 50,7), tetrasiklin (% 48,6), trimetoprim/sulfametoksazol (SXT) (% 48,6), sefuroksim (% 45,9), amoksisilin/ klavulonik asit (AMC) (% 44,5), sefotaksim (% 41,8), seftriakson (% 40,4), gentamisin (% 20,5) amikasin (% 17,1), nitrofurantoin (% 6,8) ve fosfomisin (% 3,4) olarak belirlenmiştir. İmipeneme dirençli izolat bulunamamıştır. GSBL pozitifliği ise % 40,4 olarak bulunmuştur. Antibiyotik dirençlerinin sıklığı ve dirençli örneklerin sayısı Çizelge 4. 6.' da; örnek disk difüzyon görüntüsü Şekil 4. 5.' de gösterilmiştir.

Çoklu dirence sahip izolat sayısı, 77 (%52,7), çoklu direnci olmayan izolat sayısı ise 69 (%47,3) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4. 6. Antibiyotik dirençlerinin sıklığı ve dirençli örneklerin enfeksiyonun kökenine göre sayısı.

n (%)			
Antibiyotik	Toplum Kökenli n= 92	Hastane Kökenli n = 54	Toplam n = 146
Sefazolin	62 (67,4)	42 (77,8)	104 (71,2)
Ampisilin	60 (65,2)	42 (77,8)	102 (69,9)
Nalidiksik Asit	51 (55,4)	36 (66,7)	87 (59,6)
Siprofloksasin	45 (48,9)	31 (57,4)	76 (52,1)
Norfloksasin	44 (47,8)	30 (55,6)	74 (50,7)
Tetrasiklin	46 (50)	25 (46,3)	71 (48,6)
SXT	41 (44,6)	30 (55,6)	71 (48,6)
Sefuroksim	38 (41,3)	29 (53,7)	67 (45,9)
AMC	34 (37)	31 (57,4)	65 (44,5)
Sefotaksim	36 (39,1)	25 (46,3)	61 (41,8)
GSBL	33 (35,9)	26 (48,1)	59 (40,4)
Seftriakson	33 (35,9)	26 (48,1)	59 (40,4)
Gentamisin	15 (16,3)	15 (27,8)	30 (20,5)
Amikasin	14 (15,2)	11 (20,4)	25 (17,1)
Nitrofurantoin	6 (6,5)	4 (7,4)	10 (6,8)
Fosfomisin	2 (2,2)	3 (5,6)	5 (3,4)
İmipenem	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Çoklu Direnç	45 (48,9)	32 (59,3)	77 (52,7)



Şekil 4. 5. Örnek disk difüzyon görüntüsü.

4. 6. Hasta Verileri ile Virülans Genlerinin Karşılaştırılması

Yaş ile virülans genlerinin karşılaştırılması; Hassasiyeti arttırmak amacıyla 2x2 tablo düzeni oluşturulmuştur; istenen yaş (örneğin 0 – 19 arası), bölünmüş diğer yaş gruplarının toplamıyla (19 yaş ve üzeri) karşılaştırılmıştır. Böylece, beklenen sayı 5' den az olduğunda Fisher' in kesin olasılık testi uygulanabilmiştir.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, *iha* geninin 65 ve üzeri hastalarda diğer yaş gruplarına oranla daha sık görüldüğü belirlenmiştir ($P = 0,002$). Diğer genlerde yaş grupları arasında bir fark belirlenememiştir.

Cinsiyet ile virülans genlerinin karşılaştırması; İstatistiksel olarak anlamlı bulunan tek fark *papAH* genine aittir. Toplam 97 kadın hastanın 26 (% 26,8)' sı *papAH* pozitifken, 49 erkeğin 5 tanesi (% 10,2) *papAH* pozitifdir ($P = 0,021$).

Komplikasyon ile virülans genlerinin karşılaştırması; İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Enfeksiyonun yeri ile virülans genlerinin karşılaştırması; İstatistiksel olarak anlamlı bulunan tek fark *papAH* genine aittir. Toplam 97 sistit hastasının 14 (% 14,4)' ünde *papAH* geni mevcutken, 49 piyelonefrit hastasının 17 (% 34,7)' sinde *papAH* geni pozitif bulunmuştur ($P = 0,005$).

Enfeksiyonun kökeni ile virülans genlerinin karşılaştırması; Sadece *iha* geni için istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Toplam 92 toplum kökenli enfeksiyonda 27 (% 29,3) örnek *iha* geni pozitifken, hastane kökenli 54 örnekte 28 (% 51,9) örnek *iha* pozitifdir ($P = 0,007$).

Bulgular, Çizelge 4. 7. ve 4. 8.' de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 7. Yaş ile virülans genlerinin karşılaştırılması.

Yaş	n (%)															
	<i>papAH</i>	<i>P</i>	<i>fimH</i>	<i>P</i>	<i>bmaE</i>	<i>P</i>	<i>sfa/focDE</i>	<i>P</i>	<i>focG</i>	<i>P</i>	<i>gafD</i>	<i>P</i>	<i>afa/draBC</i>	<i>P</i>	<i>iha</i>	<i>P</i>
0 – 18 n=11	1		11		1		4		2		1		1		2	
	(9,1)	*>0,05	(100)	*>0,05	(9,1)	*>0,05	(36,1)	*>0,05	(18,2)	*>0,05	(9,1)	*>0,05	(9,1)	*>0,05	(18,2)	*>0,05
19 Üzeri n=135	30		131		0		19		11		1		13		53	
	(22,2)		(97,0)		(0)		(14,1)		(8,1)		(0,7)		(9,6)		(59,3)	
19 – 64 n=86	18		84		0		14		10		1		8		26	
	(20,9)	>0,05	(97,7)	*>0,05	(0)	*>0,05	(16,3)	*>0,05	(11,6)	>0,05	(1,2)	*>0,05	(9,3)	>0,05	(30,2)	0,026
0 – 18 ve 65 üzeri n=60	13		58		1		9		3		1		6		29	
	(21,7)		(96,7)		(1,7)		(15)		(5)		(1,7)		(10)		(48,3)	
65 Üzeri n=49	12		47		0		5		1		2		5		27	
	(24,5)	>0,05	(95,9)	*>0,05	(0)	*>0,05	(10,2)	>0,05	(2)	*>0,05	(2,1)	*>0,05	(10,2)	*>0,05	(55,1)	0,002
64 ve altı n=97	19		95		1		18		12		0		9		28	
	(19,6)		(97,9)		(1)		(18,6)		(12,4)		(0)		(9,3)		(28,9)	

*; Fisher' in kesin olasılık testi

Çizelge 4. 8. Hasta verileri ile virülans genlerinin karşılaştırılması.

Hasta Verileri	n (%)															
	<i>papAH</i>	<i>P</i>	<i>fimH</i>	<i>P</i>	<i>bmaE</i>	<i>P</i>	<i>sfa/focDE</i>	<i>P</i>	<i>focG</i>	<i>P</i>	<i>gafD</i>	<i>P</i>	<i>afa/draBC</i>	<i>P</i>	<i>iha</i>	<i>P</i>
Erkek n=49	5 (10,2)	0,021	48 (98)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	17 (17,5)	>0,05	2 (4,1)	*>0,05	1 (2)	*>0,05	5 (10,2)	*>0,05	17 (34,7)	>0,05
Kadın n=97	26 (26,8)		94 (96,9)		1 (1)		6 (12,2)		11 (11,3)		1 (1)		9 (9,3)		38 (39,2)	
Sistit n=97	14 (14,4)	0,005	95 (97,9)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	14 (14,4)	>0,05	7 (7,2)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	12 (12,4)	*>0,05	35 (36,1)	>0,05
Piyelonefrit n=49	17 (34,7)		47 (95,9)		1 (2)		9 (18,4)		6 (12,2)		2 (4,1)		2 (4,1)		20 (40,8)	
Komplike n=112	23 (20,5)	>0,05	109 (97,3)	*>0,05	1 (0,9)	*>0,05	19 (17)	>0,05	12 (10,7)	*>0,05	2 (1,8)	*>0,05	11 (9,8)	*>0,05	43 (38,4)	>0,05
Komplike Olmayan n=34	8 (23,5)		33 (97,1)		0 (0)		4 (5,4)		100 (89,3)		0 (0)		3 (8,8)		12 (35,3)	
Toplum n=92	21 (22,8)	>0,05	89 (96,7)	*>0,05	1 (1,1)	*>0,05	16 (17,4)	>0,05	8 (8,7)	*>0,05	1 (1,1)	*>0,05	11 (12)	*>0,05	27 (29,3)	0,007
Hastane n=54	10 (18,5)		53 (98,1)		0 (0)		7 (13)		5 (4,8)		1 (1,9)		3 (5,6)		28 (51,9)	

*, Fisher' in kesin olasılık testi

4. 7. Antibiyotik Direnci ile Virülans Genlerinin Karşılaştırılması

Ampisilin direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *sfa/focDE* ve *iha* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilmiştir. Toplam 44 duyarlı izolatın 11 (% 25) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 102 dirençli izolatın ise 12 (% 11,8) tanesi *sfa/focDE* pozitifdir ($P = 0,044$). Toplam 44 duyarlı suşun 11 (% 25) tanesi *iha* pozitif; 102 dirençli suşun ise 44 (% 43,1) tanesi *iha* pozitifdir ($P = 0,038$).

AMC direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *fimH* ve *iha* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Toplam 81 duyarlı izolatın hepsinin *fimH* geni pozitif; dirençli 65 izolatın ise 61 (% 93,8) tanesi *fimH* pozitifdir ($P = 0,037$). Toplam 81 duyarlı izolatın 23 (% 28,4) tanesi *iha* pozitif; toplam 65 dirençli izolatın ise 32 (% 49,2) tanesi *iha* pozitifdir ($P = 0,010$). *sfa/focDE*' de ise anlamlıya yakın bir fark belirlenmiştir; duyarlı izolatlarda *sfa/focDE* daha sık görülmüştür ($P = 0,053$).

Amikasin direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; Sadece *sfa/focDE* geninde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Toplam 121 duyarlı izolatın 23 (% 19) tanesi *sfa/focDE* pozitifken, 25 dirençli izolatta *sfa/focDE* pozitif olan örnek yoktur ($P = 0,014$).

Fosfomisin direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır; *iha* geni ile yapılan karşılaştırmada anlamlıya yakın bir fark elde edilmiştir; dirençli izolatlarda *iha* geni daha sık görülmüştür ($P = 0,067$).

Gentamisin direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; Sadece *sfa/focDE* geninde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Toplam 116 duyarlı izolatın 23 (% 19,8) tanesi *sfa/focDE* pozitifken; dirençli izolatlardan *sfa/focDE* geni pozitif olan örnek mevcut değildir ($P = 0,004$). *focG* ile yapılan karşılaştırmada ise anlamlıya yakın bir fark belirlenmiştir; duyarlı izolatlarda *focG* geni daha sık görülmüştür ($P = 0,071$).

Nalidiksik asit direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *sfa/focDE*, *focG* ve *iha* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Toplam 59 duyarlı izolatın 18 (% 30,5) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 87 dirençli izolatın ise 5 (% 5,7) tanesi pozitifdir ($P = 0,000$). Toplam 59 duyarlı izolatın 11 (% 18,6) tanesi *focG* pozitif; 87 dirençli izolatın ise 2 (% 2,3) tanesi pozitifdir ($P = 0,001$). Toplam 59 duyarlı izolatın 16 (% 27,1) tanesi *iha* pozitif; 87 dirençli izolatın ise 39 (% 44,8) tanesi pozitifdir ($P = 0,030$). *papAH*' da ise anlamlıya yakın bir fark belirlenmiştir; duyarlı izolatlarda *papAH* geni daha sık görülmüştür ($P = 0,065$).

Nitrofurantoin direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Norfloksasin direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *sfa/focDE* ve *focG* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir. Toplam 72 duyarlı izolatın 21 (% 29,2) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 74 dirençli izolatın ise 2 (% 2,7) tanesi pozitifdir ($P = 0,000$). Toplam 72 duyarlı izolatın 13 (% 18,1) tanesi *focG* pozitifken, 74 dirençli izolatta *focG* pozitif olan yoktur ($P = 0,000$). *iha* geni ile yapılan karşılaştırmada ise anlamlıya yakın bir fark bulunmuştur; dirençli izolatlarda *iha* geni daha sık görülmüştür ($P = 0,080$).

Sefazolin direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; Yalnızca *sfa/focDE* geninde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Toplam 42 duyarlı izolatın 11 (% 26,2) tanesi pozitif; 104 dirençli izolatın ise 12 (% 11,5) tanesi pozitifdir ($P = 0,028$). *iha* geniyle yapılan karşılaştırmada ise anlamlıya yakın bir fark bulunmuştur; dirençli izolatlarda *iha* geni daha sık görülmüştür ($P = 0,069$).

Sefuroksim direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *sfa/focDE*, *focG*, *afa/draBC* ve *iha* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Toplam 79 duyarlı izolatın 18 (% 22,8) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 67 dirençli izolatın ise 5 (% 7,5) tanesi pozitifdir ($P = 0,011$). Toplam 79 duyarlı izolatın 11 (% 13,9) tanesi *focG* pozitif; 67 dirençli izolatın ise 2 (% 3) tanesi pozitifdir ($P = 0,021$). Toplam 79 duyarlı izolatın 2 (% 2,5) tanesi *afa/draBC* pozitif; 67 dirençli izolatın ise 12 (% 17,9) tanesi pozitifdir ($P = 0,002$). Toplam 79 duyarlı izolatın 19 (% 24,1) tanesi *iha* pozitif; 67 dirençli izolatın ise 36 (% 53,7) tanesi pozitifdir ($P = 0,000$). *papAH* da ise anlamlıya yakın bir fark belirlenmiştir; duyarlı izolatlarda *papAH* daha sık görülmüştür ($P = 0,086$).

Sefotaksim direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *papAH*, *sfa/focDE* ve *afa/draBC* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Toplam 85 duyarlı izolatın 23 (% 27,1) tanesi *papAH* pozitif; toplam 61 dirençli izolatın ise 8 (% 13,1) tanesi pozitifdir ($P = 0,042$). Toplam 85 duyarlı izolatın 18 (% 21,2) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 61 dirençli izolatın ise 5 (% 8,2) tanesi pozitifdir ($P = 0,034$). Toplam 85 duyarlı izolatın 3 (% 3,5) tanesi *afa/draBC* pozitif; 61 dirençli izolatın ise 11 (% 18) tanesi pozitifdir ($P = 0,003$). *iha* geniyle yapılan karşılaştırmada ise anlamlıya yakın bir fark bulunmuştur; dirençli izolatlarda *iha* daha sık görülmüştür ($P = 0,082$).

Seftriakson direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *sfa/focDE*, *focG*, *afa/draBC* ve *iha* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Toplam 87 duyarlı izolatın 19 (% 21,8) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 59 dirençli izolatın ise 4 (% 9,3) tanesi pozitifdir ($P = 0,014$). Toplam 87 duyarlı izolatın 12 (% 13,8) tanesi *focG* pozitif; 59

dirençli izolatın ise 1 (% 1,7) tanesi pozitifdir ($P = 0,012$). Toplam 87 duyarlı izolatın 2 (% 2,3) tanesi *afa/draBC* pozitif; 59 dirençli izolatın ise 12 (% 20,3) tanesi pozitifdir ($P = 0,000$). Toplam 87 duyarlı izolatın 24 (% 27,6) tanesi *iha* pozitif; 59 dirençli izolatın ise 31 (% 52,5) tanesi pozitifdir ($P = 0,002$).

Siprofiloksalin direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *sfa/focDE* ve *focG* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Toplam 70 duyarlı izolatın 20 (% 21,1) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 76 dirençli izolatın ise 3 (% 3,9) tanesi pozitifdir ($P = 0,000$). Toplam 70 duyarlı izolatın 12 (% 17,1) tanesi *focG* pozitif; 76 dirençli izolatın 1 (% 1,3) tanesi pozitifdir ($P = 0,001$).

Tetrasiklin direnci ile virülans genlerinin kıyaslanması; İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır; *fimH* ($P = 0,053$) ve *sfa/focDE* ($P = 0,057$)’ de ise anlamlıya yakın bir fark belirlenmiştir. İki gen için de duyarlı izolatlarda görülme sıklığı daha fazladır.

SXT direnci ile virülans genlerinin karşılaştırması; *sfa/focDE* ve *afa/draBC* genlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Toplam 75 duyarlı izolatın 19 (% 25,3) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 71 dirençli izolatın ise 4 (% 5,6) tanesi pozitifdir ($P = 0,001$). Toplam 75 duyarlı izolatın 3 (% 4) tanesi *afa/draBC* pozitif; 71 dirençli izolatın ise 11 (% 15,5) tanesi pozitifdir ($P = 0,018$). *focG* geni ile yapılan karşılaştırmada ise anlamlıya yakın bir fark belirlenmiştir; duyarlı izolatlarda *focG* daha sık görülmüştür ($P = 0,053$).

GSBL üretimi ile virülans genlerinin karşılaştırması; *sfa/focDE*, *afa/draBC* ve *iha* genleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmiştir. Toplam 87 GSBL negatif izolatın 18 (% 20,7) tanesi *sfa/focDE* pozitif; 59 GSBL pozitif izolatın ise 5 (% 8,5) tanesi *sfa/focDE* pozitifdir ($P = 0,047$). Toplam 87 GSBL negatif izolatın 2 (% 2,3) tanesi *afa/draBC* pozitif; 59 GSBL pozitif izolatın ise 12 (% 20,3) tanesi *afa/draBC* pozitifdir ($P = 0,000$). Toplam 87 GSBL negatif izolatın 23 (% 26,4) tanesi *iha* pozitif; 59 GSBL pozitif izolatın ise 32 (% 54,2) tanesi *iha* pozitifdir ($P = 0,001$). *focG* geninde ise istatistiksel olarak anlamlıya yakın bir fark bulunmuştur ($P = 0,054$).

Bulgular, Çizelge 4. 9.’ da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 9. Antibiyotik dirençleri ile virülans genlerinin karşılaştırılması.

Antibiyotikler	n (%)																
	<i>papAH</i>	<i>P</i>	<i>fimH</i>	<i>P</i>	<i>bmaE</i>	<i>P</i>	<i>sfa/focDE</i>	<i>P</i>	<i>focG</i>	<i>P</i>	<i>gafD</i>	<i>P</i>	<i>afa/draBC</i>	<i>P</i>	<i>iha</i>	<i>P</i>	
Ampisilin	S n=44	13 (29,5)	>0,05	44 (100)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	11 (25)	0,044	6 (13,6)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	2 (4,5)	*>0,05	11 (25)	0,038
	R n=102	18 (17,6)		98 (96,1)		1 (1)		12 (11,8)		7 (6,9)		2 (2)		12 (11,8)		44 (43,1)	
AMC	S n=81	20 (24,7)	>0,05	81 (100)	* 0,037	1 (1,2)	*>0,05	17 (21)	0,053	9 (11,1)	>0,05	1 (1,2)	*>0,05	6 (7,4)	>0,05	23 (28,4)	0,010
	R n=65	11 (16,9)		61 (93,8)		0 (0)		6 (9,2)		4 (6,2)		1 (1,5)		8 (12,3)		32 (49,2)	
Amikasin	S n=121	28 (23,1)	>0,05	118 (97,5)	*>0,05	1 (0,8)	*>0,05	23 (19)	* 0,014	13 (10,7)	*>0,05	2 (1,7)	*>0,05	10 (8,3)	*>0,05	42 (34,7)	>0,05
	R n=25	3 (12)		24 (96)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		4 (16)		13 (52)	
Fosfomisin	S n=141	30 (21,3)	*>0,05	137 (97,2)	*>0,05	1 (0,7)	*>0,05	22 (15,6)	*>0,05	12 (8,5)	*>0,05	2 (1,4)	*>0,05	13 (9,2)	*>0,05	51 (36,2)	*0,067
	R n=5	1 (20)		5 (100)		0 (0)		1 (20)		1 (20)		0 (0)		1 (20)		4 (80)	
Gentamisin	S n=116	27 (23,3)	>0,05	113 (97,4)	*>0,05	1 (0,09)	*>0,05	23 (19,8)	* 0,004	13 (11,2)	*0,071	1 (0,9)	*>0,05	12 (10,3)	*>0,05	44 (43,7)	>0,05
	R n=30	4 (13,3)		29 (96,7)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		1 (3,3)		2 (6,7)		11 (11,3)	
Nalidiksik Asit	S n=59	17 (28,8)	0,065	58 (98,3)	*>0,05	1 (1,7)	*>0,05	18 (30,5)	0,000	11 (18,6)	0,001	1 (1,7)	*>0,05	3 (5,1)	>0,05	16 (27,1)	0,030
	R n=87	14 (16,1)		84 (96,6)		0 (0)		5 (5,7)		2 (2,3)		1 (1,1)		11 (12,6)		39 (44,8)	
Nitrofurantoin	S n=136	29 (28,9)	*>0,05	133 (97,8)	*>0,05	1 (0,7)	*>0,05	22 (16,2)	*>0,05	13 (9,6)	>0,05	2 (1,5)	*>0,05	14 (10,3)	*>0,05	52 (38,2)	*>0,05
	R n=10	2 (20)		9 (90)		0 (0)		1 (10)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		3 (30)	
Norfloksasin	S n=72	19 (26,4)	>0,05	70 (97,2)	*>0,05	1 (1,4)	*>0,05	21 (29,2)	0,000	13 (18,1)	0,000	1 (1,4)	*>0,05	6 (8,3)	>0,05	22 (30,6)	0,080
	R n=74	12 (16,2)		72 (97,3)		0 (0)		2 (2,7)		0 (0)		1 (1,4)		8 (10,8)		33 (44,6)	

Çizelge 4. 9. Antibiyotik dirençleri ile virülans genlerinin karşılaştırılması (Devam).

		n (%)															
Antibiyotikler		<i>papAH</i>	<i>P</i>	<i>fimH</i>	<i>P</i>	<i>bmaE</i>	<i>P</i>	<i>sfa/focDE</i>	<i>P</i>	<i>focG</i>	<i>P</i>	<i>gafD</i>	<i>P</i>	<i>afa/draBC</i>	<i>P</i>	<i>iha</i>	<i>P</i>
Sefazolin	S n=42	12 (28,6)	>0,05	42 (100)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	11 (26,2)	0,028	6 (14,3)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	2 (4,8)	*>0,05	11 (26,2)	0,069
	R n=104	19 (18,3)		100 (96,2)		1 (1)		12 (11,5)		7 (6,7)		2 (1,9)		12 (11,5)		44 (42,3)	
Sefuroksim	S n=79	21 (26,6)	0,086	78 (98,7)	*>0,05	1 (1,3)	*>0,05	18 (22,8)	0,011	11 (13,9)	0,021	2 (2,5)	*>0,05	2 (2,5)	0,002	19 (24,1)	0,000
	R n=67	10 (14,9)		64 (95,5)		0 (0)		5 (7,5)		2 (3)		0 (0)		12 (17,9)		36 (53,7)	
Sefotaksim	S n=85	23 (27,1)	0,042	84 (98,8)	*>0,05	1 (1,2)	*>0,05	18 (21,2)	0,034	10 (11,8)	>0,05	2 (2,4)	*>0,05	3 (3,5)	0,003	27 (31,8)	0,082
	R n=61	8 (13,1)		58 (95,1)		0 (0)		5 (8,2)		3 (4,9)		0 (0)		11 (18)		28 (45,9)	
Seftriakson	S n=87	22 (25,3)	>0,05	86 (98,9)	>0,05	1 (1,1)	*>0,05	19 (21,8)	0,014	12 (13,8)	0,012	2 (2,3)	*>0,05	2 (2,3)	0,000	24 (27,6)	0,002
	R n=59	9 (15,3)		56 (94,9)		0 (0)		4 (9,3)		1 (1,7)		0 (0)		12 (20,3)		31 (52,5)	
Siprofloksasin	S n=70	18 (25,7)	>0,05	68 (97,1)	*>0,05	1 (1,4)	*>0,05	20 (28,6)	0,000	12 (17,1)	0,001	1 (1,4)	*>0,05	6 (8,6)	>0,05	22 (26,4)	>0,05
	R n=76	13 (17,1)		74 (97,4)		0 (0)		3 (3,9)		1 (1,3)		8 (10,5)		33 (43,4)			
Tetrasiklin	S n=75	20 (26,7)	>0,05	75 (100)	*0,053	0 (0)	*>0,05	16 (21,3)	0,057	9 (12)	>0,05	0 (0)	*>0,05	5 (6,7)	>0,05	30 (40)	>0,05
	R n=71	11 (15,5)		67 (94,4)		1 (1,4)		7 (9,9)		4 (5,6)		2 (2,8)		9 (12,7)		25 (35,2)	
SXT	S n=75	17 (22,7)	>0,05	74 (98,7)	*>0,05	1 (1,3)	*>0,05	19 (25,3)	0,001	10 (13,3)	0,053	1 (1,3)	*>0,05	3 (4)	0,018	26 (34,7)	>0,05
	R n=71	14 (19,7)		68 (95,8)		0 (0)		4 (5,6)		3 (4,2)		1 (1,4)		11 (15,5)		29 (40,8)	
GSBL	- n=87	22 (25,3)	>0,05	86 (98,9)	*>0,05	1 (1,1)	*>0,05	18 (20,7)	0,047	11 (7,7)	0,054	2 (2,3)	*>0,05	2 (2,3)	0,000	23 (26,4)	0,001
	+ n=59	9 (12,5)		56 (94,9)		0 (0)		5 (8,5)		2 (3,4)		0 (0)		12 (20,3)		32 (54,2)	

*, Fisher' in kesin olasılık testi; S, duyarlı; R, dirençli; AMC, Amoksisilin/klavulonik asit; SXT, Trimetoprim/sulfametoksazol; GSBL, Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz.

4. 8. Filogenetik Gruplar ile Virülans Genlerinin Karşılaştırılması

Hassasiyeti arttırmak için 2x2 tablo düzeni oluşturulmuştur; istenen filogenetik grup (örneğin A grubu), bölünmüş diğer filogenetik grupların toplamıyla (örneğin A olmayan) karşılaştırılmıştır. Böylece, beklenen değer 5' den az olduğunda Fisher' in kesin olasılık testi kullanılabilmiştir.

fimH geni ile filogenetik gruplar karşılaştırıldığında, A filogenetik kökenli izolatların diğer gruplara göre daha az sıklıkla *fimH* geni içerdiği belirlenmiştir (P = 0,046).

sfa/focDE (P = 0,000), *focG* (P = 0,000), *afa/draBC* (P = 0,001) ve *iha* (P = 0,000) genleri, B2 grubunda B2 olmayanlara göre daha sık belirlenmiştir; belirlenen tek *bmaE* geni ise D filogenetik kökenli bir izolata aittir.

sfa/focDE (P = 0,000), *focG* (P = 0,011), *afa/draBC* (P = 0,011) ve *iha* (P = 0,007) genleri D grubuna ait izolatlarda daha seyrek olarak belirlenmiştir.

papAH geni daha çok sırası ile B2, D, B1 ve A gruplarında gözlemlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Elde edilen veriler, Çizelge 4. 10.' da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 10. Filogenetik gruplar ile virülans genlerinin karşılaştırılması.

Filogenetik Grup	n (%)															
	<i>papAH</i>	<i>P</i>	<i>fimH</i>	<i>P</i>	<i>bmaE</i>	<i>P</i>	<i>sfa/focDE</i>	<i>P</i>	<i>focG</i>	<i>P</i>	<i>gafD</i>	<i>P</i>	<i>afa/draBC</i>	<i>P</i>	<i>iha</i>	<i>P</i>
A n=36	5 (13,9)	>0,05	33 (91,7)	0,046	0 (0)	*>0,05	2 (5,6)	>0,05	0 (0)	0,038	1 (2,8)	*>0,05	2 (5,6)	*>0,05	8 (22,2)	0,028
A olmayan n=110	26 (23,4)		109 (99,1)		1 (0,9)		21 (19,1)		13 (11,8)		1 (0,9)		12 (10,9)		47 (42,7)	
B1 n=15	3 (20)	*>0,05	15 (100)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	2 (13,3)	*>0,05	1 (6,7)	>0,05	0 (0)	*>0,05	1 (6,7)	*>0,05	7 (46,7)	*>0,05
B1 olmayan n=131	28 (21,4)		127 (96,9)		1 (0,8)		21 (16)		12 (9,2)		2 (1,5)		13 (9,9)		48 (36,6)	
B2 n=52	15 (28,8)	0,094	52 (100)	*>0,05	0 (0)	*>0,05	19 (36,5)	0,000	12 (23,1)	0,000	0 (0)	*>0,05	11 (21,2)	*0,001	31 (59,6)	0,000
B2 olmayan n=94	16 (17)		90 (95,7)		1 (1,1)		4 (4,3)		1 (1,1)		2 (2,1)		3 (3,2)		24 (25,5)	
D n=43	8 (18,6)	>0,05	42 (97,7)	*>0,05	1 (2,3)	*>0,05	0 (0)	0,000	0 (0)	*0,011	1 (2,3)	*>0,05	0 (0)	*0,011	9 (20,9)	0,007
D olmayan n=103	23 (22,3)		100 (97,1)		0 (0)		23 (22,3)		13 (12,6)		1 (1,4)		14 (13,6)		46 (44,7)	

*, Fisher' in kesin olasılık testi

4. 9. Antibiyotik Direnci ile Filogenetik Grupların Karşılaştırılması

Antibiyotik direnci ile filogenetik gruplar karşılaştırıldığında, anlamlı bulunan farklar B2 filogenetik grubuna aittir. Amikasine dirençli izolatların diğer gruplardan daha sık olarak B2 grubunda görüldüğü belirlenmiştir ($P = 0,019$). Aynı eğilim, GSBL üretiminde de belirlenmiştir ($P = 0,035$). Ayrıca fosfomisin ile yapılan karşılaştırmada, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da aynı eğilim gözlemlenmiştir ($P = 0,054$).

Tetrasiklin direncinde ise, tam tersi bir eğilim mevcuttur; dirençli izolatlar daha sık olarak B2 dışı gruplarda belirlenmiştir ($P = 0,012$).

Siprofloksasin ($P = 0,082$) ve nalidiksik asit ($P = 0,089$) ile B1 grubu kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte dirençli izolatların B1 grubunda yoğun olarak bulunduğu gözlemlenmiştir.

A grubuna ait izolatlar diğer gruplarla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha sık olarak nalidiksik asit ($P = 0,082$) ve sefuroksim ($P = 0,082$) duyarlı oldukları gözlemlenmiştir. GSBL üretimi açısından da aynı eğilim söz konusudur ($P = 0,075$).

Elde edilen bulgular, Çizelge 4. 11' de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 11. Antibiyotik direnci ile filogenetik grupların karşılaştırması.

Antibiyotikler		n (%)											
		A n=36	A olmayan n=110	P	B1 n=15	B1 olmayan n=131	P	B2 n=52	B2 olmayan n=94	P	D n=43	D olmayan n=103	P
Ampisilin	S n=44	13 (29,5)	31 (70,5)	>0,05	3 (6,8)	41 (93,2)	*>0,05	17 (38,6)	27 (61,4)	>0,05	11 (25)	33 (75)	>0,05
	R n=102	23 (22,5)	79 (77,5)		12 (11,8)	90 (88,2)		35 (34,3)	67 (65,7)		32 (31,4)	70 (68,6)	
AMC	S n=81	20 (24,7)	61 (75,3)	>0,05	8 (9,9)	73 (90,1)	>0,05	27 (33,3)	54 (66,7)	>0,05	26 (32,1)	55 (67,9)	>0,05
	R n=65	16 (24,6)	49 (75,4)		7 (10,8)	58 (89,2)		25 (38,5)	40 (61,5)		17 (26,2)	48 (73,8)	
Amikasin	S n=121	33 (27,3)	88 (72,7)	>0,05	13 (10,7)	108 (89,3)	*>0,05	38 (31,4)	83 (68,6)	0,019	37 (30,6)	84 (69,4)	>0,05
	R n=25	3 (12)	22 (88)		2 (8)	23 (92)		14 (56)	11 (44)		6 (24)	19 (76)	
Fosfomisin	S n=141	36 (25,5)	105 (74,5)	*>0,05	14 (9,9)	127 (90,1)	*>0,05	48 (34)	93 (66)	*0,054	43 (30,5)	98 (69,5)	*>0,05
	R n=5	0 (0)	5 (100)		1 (20)	4 (80)		4 (80)	1 (20)		0 (0)	5 (100)	
Gentamisin	S n=116	27 (23,3)	89 (76,7)	>0,05	14 (12,1)	102 (87,9)	*>0,05	44 (37,9)	72 (62,1)	>0,05	31 (26,7)	85 (73,3)	>0,05
	R n=30	9 (30)	21 (70)		1 (3,3)	29 (96,7)		8 (26,7)	22 (73,3)		12 (40)	18 (60)	
Nalidiksik Asit	S n=59	19 (32,2)	40 (67,8)	0,082	3 (5,1)	56 (94,9)	0,089	21 (35,6)	38 (64,4)	>0,05	16 (27,1)	43 (72,9)	>0,05
	R n=87	17 (19,5)	70 (80,5)		12 (13,8)	75 (86,2)		31 (35,6)	56 (64,4)		27 (31)	60 (69)	
Nitrofurantoin	S n=136	32 (23,5)	104 (76,5)	*>0,05	14 (10,3)	122 (89,7)	*>0,05	51 (37,5)	85 (62,5)	*>0,05	39 (28,7)	97 (71,3)	*>0,05
	R n=10	4 (40)	6 (60)		1 (10)	9 (90)		1 (10)	9 (90)		4 (40)	6 (60)	
Norfloksasin	S n=72	20 (27,8)	52 (72,2)	>0,05	5 (6,9)	67 (93,1)	*>0,05	27 (37,5)	45 (62,5)	>0,05	20 (27,8)	52 (72,2)	*>0,05
	R n=74	16 (21,6)	58 (78,4)		10 (13,5)	64 (86,5)		25 (33,8)	49 (66,2)		23 (31,1)	51 (68,9)	

Çizelge 4. 11. Antibiyotik direnciyle filogenetik grupların karşılaştırması (Devam).

Antibiyotikler	n (%)												
	A n=36	A olmayan n=110	P	B1 n=15	B1 olmayan n=131	P	B2 n=52	B2 olmayan n=94	P	D n=43	D olmayan n=103	P	
Sefazolin	S n=42	14 (33,3)	28 (66,7)	>0,05	3 (7,1)	39 (92,9)	*>0,05	14 (33,3)	27 (66,7)	>0,05	11 (26,2)	31 (73,8)	>0,05
	R n=104	22 (21,2)	82 (78,8)		12 (11,5)	92 (88,5)		38 (36,5)	66 (63,5)		32 (30,8)	72 (69,2)	
Sefuroksim	S n=79	24 (30,4)	55 (69,6)	0,082	9 (11,4)	70 (88,6)	>0,05	24 (30,4)	55 (69,6)	>0,05	22 (27,8)	57 (72,2)	>0,05
	R n=67	12 (17,9)	55 (82,1)		6 (9)	61 (91)		28 (41,8)	39 (58,2)		21 (31,3)	46 (68,7)	
Sefotaksim	S n=85	24 (28,2)	61 (71,8)	>0,05	9 (10,6)	76 (89,4)	>0,05	26 (30,6)	59 (69,4)	>0,05	26 (30,6)	59 (69,4)	>0,05
	R n=61	12 (19,7)	49 (80,3)		6 (9,8)	55 (90,2)		26 (42,6)	35 (57,4)		17 (27,9)	44 (72,1)	
Seftriakson	S n=87	25 (28,7)	62 (71,3)	>0,05	10 (11,5)	77 (88,5)	>0,05	26 (29,9)	61 (70,1)	>0,05	26 (29,9)	61 (70,1)	>0,05
	R n=59	11 (18,6)	48 (81,4)		5 (8,5)	54 (91,5)		26 (44,1)	33 (55,9)		17 (28,8)	42 (71,2)	
Siprofloksasin	S n=70	19 (27,1)	51 (72,9)	>0,05	4 (5,7)	66 (94,3)	0,082	27 (38,6)	43 (61,4)	>0,05	20 (28,6)	50 (71,4)	>0,05
	R n=76	17 (22,4)	59 (77,6)		11 (14,5)	65 (85,5)		25 (32,9)	51 (67,1)		23 (30,3)	53 (69,7)	
Tetrasiklin	S n=75	17 (22,7)	58 (77,3)	>0,05	7 (9,3)	68 (90,7)	>0,05	34 (45,3)	41 (54,7)	0,012	17 (22,7)	58 (77,3)	>0,05
	R n=71	19 (26,8)	52 (73,2)		8 (11,3)	63 (89,7)		18 (25,4)	53 (74,6)		26 (36,6)	45 (63,4)	
SXT	S n=75	21 (28)	54 (72)	>0,05	6 (8)	69 (92)	>0,05	29 (38,7)	46 (61,3)	>0,05	19 (25,3)	56 (74,7)	>0,05
	R n=71	15 (21,1)	56 (78,9)		9 (12,7)	62 (87,3)		23 (32,4)	48 (67,6)		24 (33,8)	47 (66,2)	
GSBL	- n=87	26 (29,9)	61 (70,1)	0,075	10 (11,5)	77 (88,5)	>0,05	25 (28,7)	62 (71,3)	0,035	26 (29,9)	61 (70,1)	>0,05
	+ n=59	10 (16,9)	49 (83,1)		5 (8,5)	44 (91,5)		27 (45,8)	32 (54,2)		17 (28,8)	42 (71,2)	

*, Fisher' in kesin olasılık testi; S, duyarlı; R, dirençli; AMC, Amoksisilin/klavulonik asit; SXT, Trimetoprim/sulfametoksazol; GSBL, Genişlemiş Spekturumlu Beta Laktamaz.

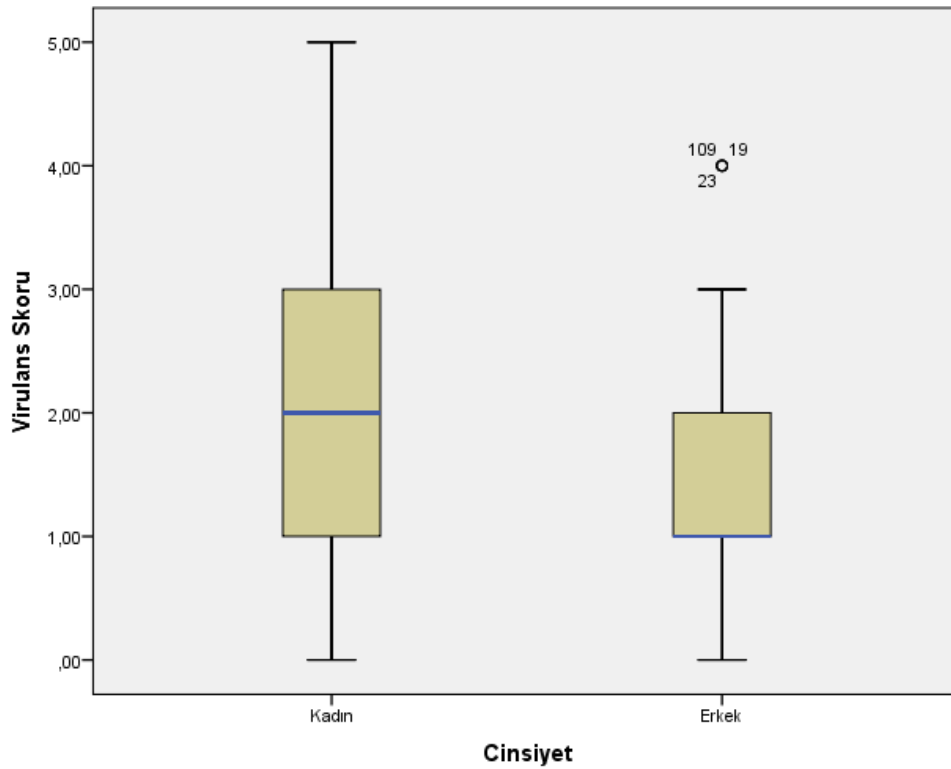
4. 10. Virülans Skorları ile Yapılan Karşılaştırmalar

Virülans skoru ile hasta verilerinin karşılaştırması; Yaş, enfeksiyonun yeri, kökeni ve komplikasyon durumu ile yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark elde edilememiştir.

Cinsiyet ile yapılan karşılaştırmada, anlamlıya yakın bir fark elde edilmiştir ($P = 0,075$). Kadın hastalarda, erkek hastalara göre daha çok virülans faktörüne sahip izolat gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler, Çizelge 4. 12' de; cinsiyete göre virülans skoru karşılaştırması Şekil 4. 6.' da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 12. Cinsiyet ile virülans skorunun karşılaştırılması.

		Virülans Skoru				
n=146		Minimum	Maksimum	Ortalama	Ortanca	P
Kadın	97	0	5	2,0206	2	0,075
Erkek	49	0	4	1,7143	1	

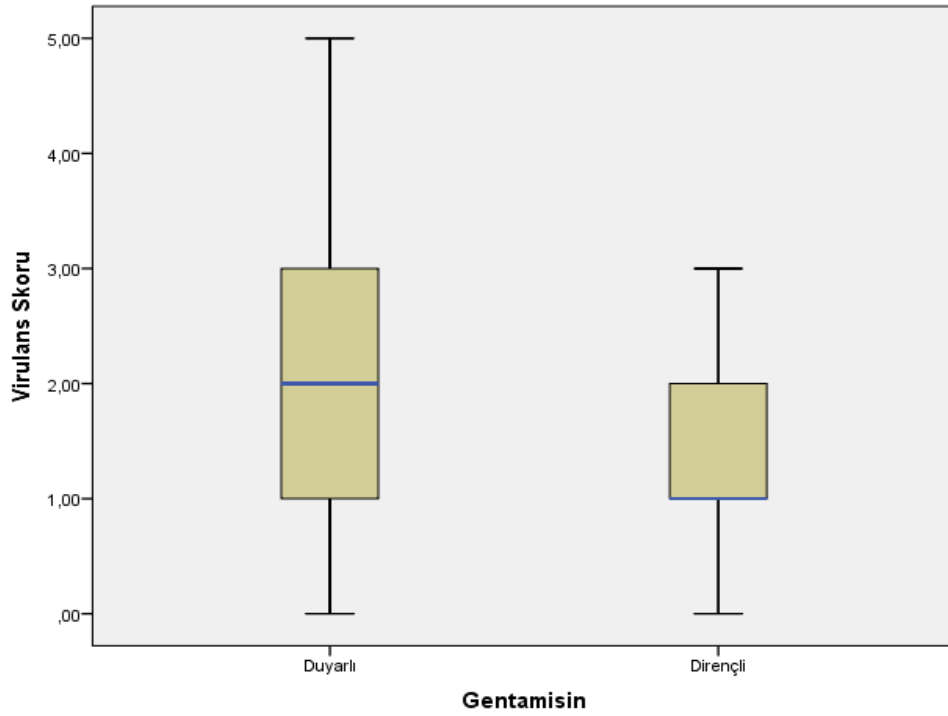


Şekil 4. 6. Cinsiyet ile virülans skorunun karşılaştırması.

Virülans skoru ile antibiyotik dirençlerinin karşılaştırması; Gentamisin dışındaki antibiyotikler ile virülans skoru arasında bir bağlantı bulunamamıştır. Gentamisine duyarlı izolatların ise daha fazla virülans skoruna sahip olduğu belirlenmiştir ($P = 0,050$). Gentamisin için elde edilen veriler, Çizelge 4. 13.' de; duyarlı ve dirençli izolatların virülans skoru açısından karşılaştırılması Şekil 4. 7.' de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 13. Gentamisin ile virülans skorunun karşılaştırılması.

		Virülans Skoru				
n=146		Minimum	Maksimum	Ortalama	Ortanca	P
Gentamisin S	116	0	5	2,0086	2	0,050
R	30	0	3	1,5667	1	



Şekil 4. 7. Gentamisin duyarlı ve dirençli izolatların virülans skorlarının karşılaştırılması.

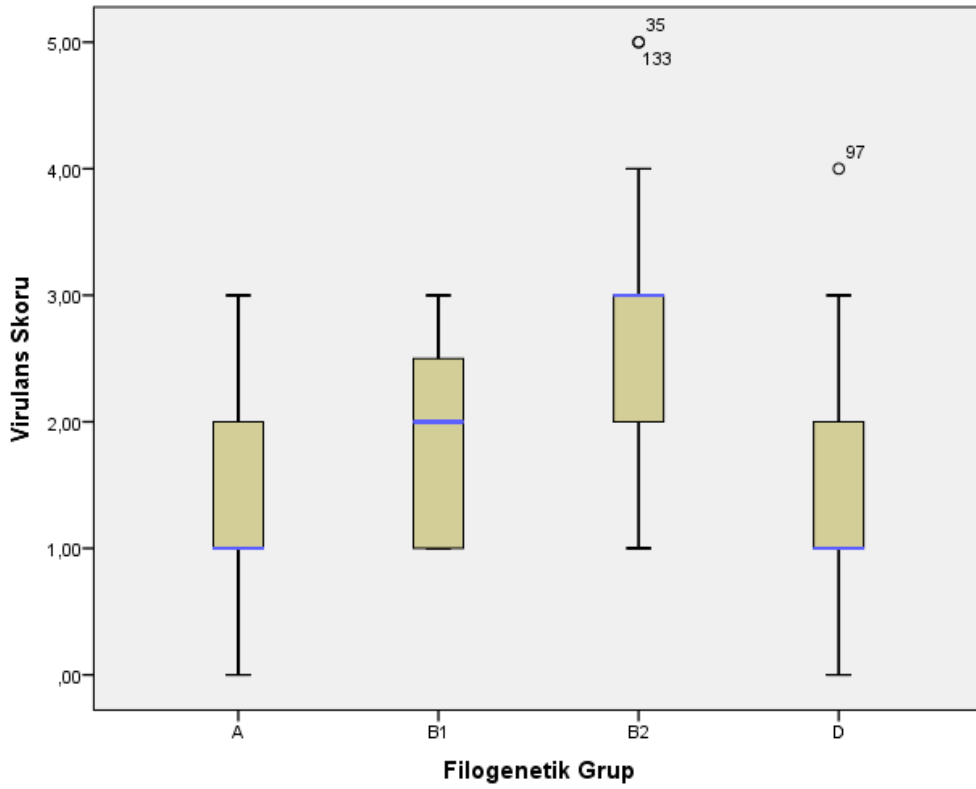
Virülans skoru ile filogenetik grupların karşılaştırması; Kruskal – Wallis analizi sonucu istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($P = 0,000$; Bonferroni düzeltmesi = 0,0125). Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için ise Mann – Whitney U testi gerçekleştirilmiştir.

Karşılaştırma sonucu, en yüksekte en düşüğe virülans skoruna sahip olan filogenetik gruplar sırası ile B2, B1, D ve A olarak belirlenmiştir. A grubunun minimum 0, maksimum 3; B1 grubunun minimum 1, maksimum 3; D grubunun minimum 0, maksimum 4; B2 grubunun ise minimum 1 maksimum 5 tane virülans geni taşıyan izolatu bulunmaktadır. Bulgular, Çizelge 4. 14' de gösterilmiştir.

Şekil 4. 8.' de filogenetik grup ile virülans skorunun karşılaştırmasına ait grafik mevcuttur.

Çizelge 4. 14. Filogenetik gruplar ile virülans geni skorlarının karşılaştırması.

	Minimum	Maksimum	Otalama	Ortanca	Standart Hata	<i>U</i>	<i>P</i>
A n=36	0	3	1,4167	1	0,12199	177,000	0,036
B1 n=15	1	3	1,9333	2	0,20625		
A n=36	0	3	1,4167	1	0,12199	317,000	0,000
B2 n=52	1	5	2,6731	3	0,13928		
A n=36	0	3	1,4167	1	0,12199	734,500	>0,05
D n=43	0	4	1,4186	1	0,12554		
B1 n=15	1	3	1,9333	2	0,20625	232,000	0,013
B2 n=52	1	5	2,6731	3	0,13928		
B1 n=15	1	3	1,9333	2	0,20625	203,000	0,015
D n=43	0	4	1,4186	1	0,20625		
B2 n=52	1	5	2,6731	3	0,13928	385,500	0,000
D n=43	0	4	1,4186	1	0,20625		



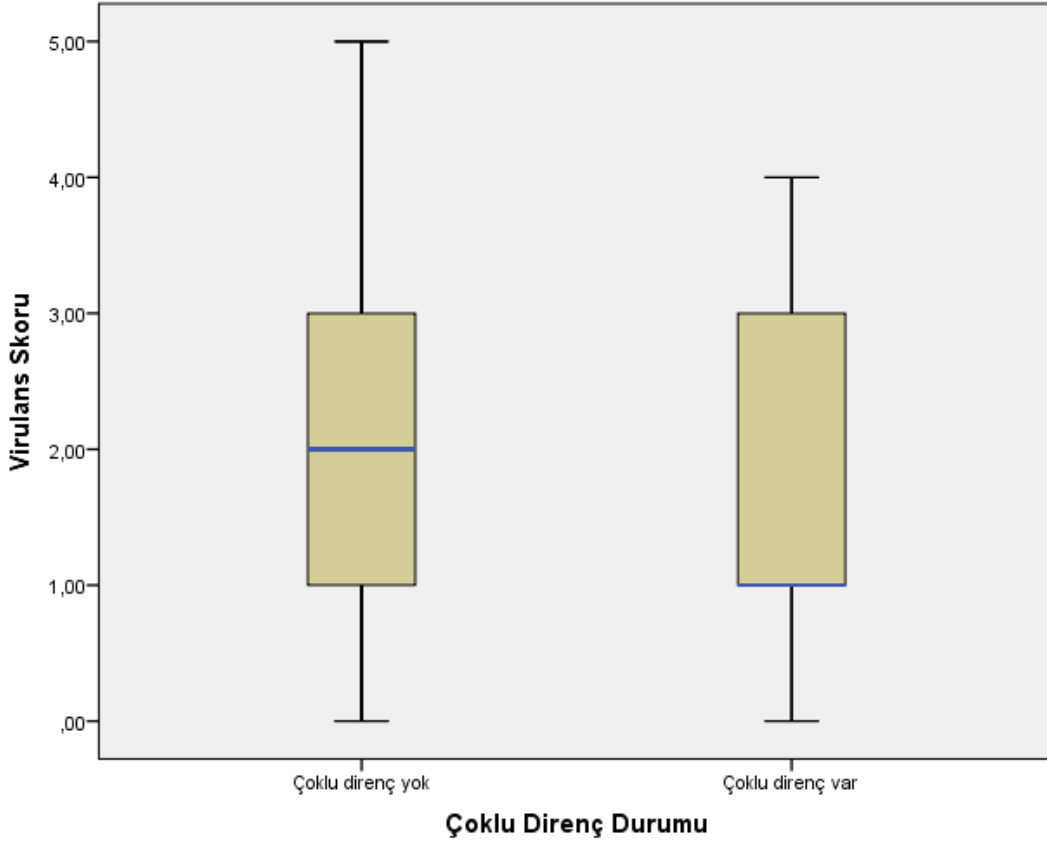
Şekil 4. 8. Filogenetik grup ile virülans skorunun karşılaştırması (o: 35, 133 ve 97 numaralı örnekler).

4. 11. Çoklu Direnç ile Yapılan Karşılaştırmalar

Çoklu direnç ile virülans skorunun karşılaştırması; Çoklu antibiyotik direnci olan izolatların virülans skoru, istatistiksel olarak anlamlıya yakın derecede daha düşük olarak gözlemlenmiştir ($P = 0,081$). Elde edilen veriler, Çizelge 4. 15' de, kutu grafiği Şekil 4. 9.' da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 15. Çoklu direnç ile virülans skorunun karşılaştırması.

		Virülans Skoru					
		n=146	Minimum	Maksimum	Ortalama	Ortanca	P
Çoklu Direnç Var	77		0	4	1,7532	1	0,081
Yok	69		0	5	2,1014	2	



Şekil 4. 9. Çoklu direnç ile virülans skorunun karşılaştırması.

Çoklu direnç ile virülans genlerinin karşılaştırması: *papAH*, *sfa/focDE*, *focG*, *afa/draBC* genleri ile istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir.

Çoklu ilaç direnci olan izolatlarda, *papAH* geni daha az sıklıkla görülmektedir. Toplam 77 çoklu dirence sahip izolatın 11 (% 14,3)' i *papAH* pozitif; toplam 69 çoklu dirence sahip olmayan izolatın ise 20 (% 29)' si *papAH* pozitifdir ($P = 0,030$).

sfa/focDE geninin sıklığı, çoklu ilaç direnci olmayan izolatlarda daha yüksek olarak belirlenmiştir. Toplam 77 çoklu dirence sahip izolatın 2 (% 2,6)' si *sfa/focDE* pozitif; toplam 69 çoklu dirence sahip olmayan izolatın ise 21(% 30,4)' i *sfa/focDE* pozitifdir ($P = 0,000$).

Benzer bir şekilde, *focG* geninin sıklığı duyarlı izolatlarda daha yüksektir. Toplam 77 çoklu dirence sahip izolatın 1 (% 1,3)' i *focG* pozitif; toplam 69 çoklu dirence sahip olmayan izolatın ise 12 (17,4)' si *focG* pozitifdir ($P = 0,001$).

afa/draBC geninin sıklığı ise çoklu antibiyotik direnci olan izolatlarda daha yüksektir. Toplam 77 çoklu dirence sahip izolatın 11 (% 14,3)' i *afa/draBC* pozitif; toplam

69 çoklu dirence sahip olmayan izolatın ise 3 (% 4,3)' ü *afa/draBC* pozitifdir ($P = 0,042$). Elde edilen veriler, Çizelge 4. 16' da gösterilmiştir.

Çoklu direnç ile filogenetik grupların karşılaştırması; Yapılan karşılaştırmada çoklu dirence sahip izolatlar ile filogenetik grupların dağılımı arasında bir ilişki belirlenmemiştir. Elde edilen veriler, Çizelge 4. 17.' de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 16. Çoklu direnç ile virülans genlerinin karşılaştırması.

Çoklu Direnç Durumu	n (%)															
	<i>papAH</i>	<i>P</i>	<i>fimH</i>	<i>P</i>	<i>bmaE</i>	<i>P</i>	<i>sfa/focDE</i>	<i>P</i>	<i>focG</i>	<i>P</i>	<i>gafD</i>	<i>P</i>	<i>afa/draBC</i>	<i>P</i>	<i>iha</i>	<i>P</i>
Çoklu Direnç Olan n=77	11 (14,3)	0,030	74 (96,1)	>0,05	0 (0)	>0,05	2 (2,6)	0,000	1 (1,3)	0,001	1 (1,4)	>0,05	11 (14,3)	0,042	33 (42,9)	>0,05
Çoklu Direnç Olmayan n=69	20 (29)		68 (98,6)		1 (1,4)		21 (30,9)		12 (17,4)		1 (1,3)		3 (4,3)		22 (31,9)	

Çizelge 4. 17. Çoklu direnç ile filogenetik grupların karşılaştırması.

Çoklu Direnç Durumu	n (%)											
	A n=36	A olmayan n=110	<i>P</i>	B1 n=15	B1 olmayan n=131	<i>P</i>	B2 n=52	B2 olmayan n=94	<i>P</i>	D n=43	D olmayan n=103	<i>P</i>
Çoklu Direnç Olan n=77	19 (24,7)	58 (75,3)	>0,05	10 (13)	67 (87)	>0,05	25 (32,5)	52 (67,5)	>0,05	23 (29,9)	54 (70,1)	>0,05
Çoklu Direnç Olmayan n=69	17 (24,6)	52 (75,4)		5 (7,2)	64 (92,8)		27 (39,1)	42 (60,9)		20 (29)	49 (71)	

5. TARTIŞMA

Ekstraintestinal enfeksiyonların en sık etkenlerinden biri olan *E. coli* çeşitli sayı ve tipte virülans faktörüne sahiptir. Bu virülans faktörleri içerisinde en önemli grup ise adezinlerdir. Organizmaya kattığı tutunma yeteneği enfeksiyonun yönü üzerinde önemli bir katkıya sahiptir.

Çeşitli virülans belirteçleri, ÜSE' de *E. coli* patojenitesine büyük oranda katkıda bulunmaktadır. Bu belirteçler, PZT ile belirlenebilen veya belirlenebilecek çeşitli genlerin ürünleridir. Ancak her zaman mutasyonlar dolayısıyla sorumlu genin bulunamama ihtimali mevcuttur. Bu nedenle, PZT' nin pozitif olması organizma için virülans genine sahip olmak anlamına gelmektedir, fakat negatif PZT operonun yokluğu anlamına gelmemektedir. Ancak bu durum nadir olarak görülür (Tarchouna et al., 2013).

Elde edilen veriler doğrultusunda, filogenetik grupların görülme sıklığı sırası ile B2 (%35,6), D (%29,5), A (%24,7) ve B1 (%10,3)' dir. B2 ve D filogenetik gruplarına ait izolatlar, A ve B1 filogenetik gruplarına ait izolatlarla karşılaştırıldıklarında; ekstraintestinal enfeksiyonlarda daha sık belirlenmektedirler (Picard et al., 1999). Elde ettiğimiz veriler, filogenetik grupların dağılımı açısından literatür ile uygunluk göstermektedir.

Yapılan bir çalışmada piyelonefrit izolatlarının (n = 170) %71' i B2; %21' i D; %8' i A ve %1' i B1 filogenetik grubuna ait; sistit izolatlarının (n = 83) ise %45' i B2; %23' ü D; %18' i A ve % 14' ü B1 filogenetik grubuna ait olarak bulunmuştur (Johnson et al., 2005b).

Fakat filogenetik grupların dağılımı her zaman bu şekilde bir dizilim göstermeyebilir. Türkiye' de toplam 75 sistit ve piyelonefrit izolatı ile yapılan bir çalışmada ise toplam izolatların %41' i B2; %27' si A; %25' i D ve %7' si B1 grubuna ait olarak belirlenmiştir (Giray et al., 2012).

Grude ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ÜSE geçiren 31 Rus ve 31 Norveçli kadın filogenetik grup, virülans faktörü ve antibiyotik direnci açısından karşılaştırılmıştır. Rus hastaların izolatlarının filogenetik grupları sırası ile A, D, B2 ve B1 şeklindeyken, Norveçli hastaların izolatlarının filogenetik grupları B2, D, B1 ve A şeklinde dağılım göstermiştir. Bu fark Rus grup A izolatlarının Norveç izolatlarına göre virülansının daha yüksek olabileceğiyle; Norveç' in sosyoekonomik olarak Rusya' dan daha iyi olmasıyla,

Rus hastaların daha genç ve Norveçli hastalara göre çok daha çeşitli klinik tablolara sahip olmasıyla ilişkilendirilmiştir (Grude et al., 2007).

Virülans genlerinin görülme sıklıkları incelendiğinde, *fimH* % 97,3; *iha* % 37,7; *papAH* % 21,2; *sfa/focDE* % 15,8; *afa/draBC* % 9,6; *focG* % 8,9; *gafD* % 1,4 ve *bmaE* % 0,7 oranında bulunmuştur. Çalışmamızda kullanılan genlerden *fimH* geni, genellikle en yüksek oranda bulunan genidir. Diğer genler ise daha az bulunmaktadır; en az ise *bmaE* ve *gafD* genleri görülmektedir (Ejrnaes et al., 2011; Ferjani et al., 2012; Poey et al., 2012; Skjot-Rasmussen et al., 2012). Bu nedenle, elde ettiğimiz verilerin yapılan diğer çalışmalar ile uyumlu olduğundan bahsedilebilir. *papAH* geni, diğer çalışmalardan özellikle sistit – piyelonefrit ayrımı yapılan çalışmalardan daha az görülmüştür (Ferjani et al., 2012; Johnson et al., 2005b; Johnson et al., 2005a). Komplike enfeksiyonlarda ürovirülans genlerinin daha az görüldüğü bilinmektedir (Nicolle, 2001). Çalışmamızda, komplike olmayan izolattan daha fazla olarak komplike izolat (% 76,7) bulunmaktadır; dolayısı ile genlerin frekansının düşük olma ihtimali muhtemeldir. *papAH* geninin frekansının düşük oluşu, bu durum ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, yapılan diğer çalışmalarda komplike olmayan örnekler çalışılmıştır.

Çalışmamızda hiçbir adezin genini içermeyen örnekler de görülmüştür. Adezin virülans genine sahip olmayan 3 tane izolat bulunmuştur; bu izolatlar incelendiğinde iki tanesi piyelonefrit, bir tanesi ise sistit etkenidir. Piyelonefrit etkenleri A filogenetik grubuna, sistit etkeni ise D filogenetik grubuna aittir. Sistit etkeni aynı zamanda nozokomiyal enfeksiyon izolatıdır. Bu hastaların üçü de komplikedir. Piyelonefrit hastalarından birisi erkek, diğer iki izolat ise kadındır. Ayrıca, izolatların üçü de ampisilin, AMC, nalidiksik asit, sefazolin, tetrasiklin ve SXT dirençlidir. Sistit izolatı, GSBL negatiftir.

Bu üç hastanın da komplike olması, konak savunma sistemlerinin daha kolay aşılabileceği anlamına gelmiştir. Komplike hastalarda, virülans genlerinin daha az olabileceği ve kommensal *E. coli* tarafından gerçekleştirilen enfeksiyon görülme sıklığının artabileceği bilinmektedir (Nicolle, 2001; Sobel and Kaye, 2009).

Virülans genleri ile filogenetik gruplar karşılaştırıldığında, *sfa/focDE* ($P = 0,000$), *focG* ($P = 0,000$), *afa/draBC* ($P = 0,001$) ve *iha* ($P = 0,000$) genlerinin B2 izolatlarında daha sık görüldüğü belirlenmiştir. B2 filogenetik grubunun virülans ile diğer gruplara göre daha fazla ilişkili olması, bu durumu açıklayıcı niteliktedir (Johnson and Stell, 2000). B2 olan ve olmayan izolatlar karşılaştırıldığında *papAH* geni, istatistiksel olarak anlamlıya yakın olacak şekilde B2 filogenetik grubunda daha sık olarak belirlenmiştir ($P = 0,094$).

Toplam 72 *E. coli* referans koleksiyonu (ECOR) ile yapılan bir çalışmada, 31 virülans geninin filogenetik gruplar ile ilişkileri incelenmiştir. *sfa/focDE*, *focG* ve *papAH* *afa/draBC* ve *iha* genlerinin B2 ve D filogenetik grubunda daha sık görüldüğü belirtilmiştir (Johnson et al., 2001a).

A filogenetik grubuna ait izolatlarda, *fimH*, *focG* ve *iha* genleri diğer filogenetik gruplardan daha az olarak bulunmuştur; A filogenetik grubu daha çok kommensal *E. coli*'de görülmektedir; dolayısı ile ürovirülans genlerini B2 ve D filogenetik grubu ile karşılaştırıldığında daha az içermesi mantıklıdır.

İlginç olan bir nokta, D filogenetik grubuna ait izolatların *sfa/focDE*, *focG*, *afa/draBC* genlerine sahip olmamasıdır; D filogenetik grubu, B2 grubundan sonra virülansla en çok ilişki belirlenen gruptur. Diğer (yapılan bazı) çalışmalarda adezin virülans genlerinin sıklığı, tek başına incelenmemiştir (Johnson et al., 2001a; Johnson et al., 2005b). Dolayısı ile D grubuna ait izolatların virülans skorlarının yüksek olmasının nedeni, adezin virülans faktörleri – dolayısı ile genleri – dışındaki diğer virülans faktörlerinin sıklığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Yapılan bir çalışmada, 152 örneğin filogenetik gruplar ve virülans genleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada da yaptığımız çalışmaya benzer bir şekilde D filogenetik grubuna ait izolatlarda *sfa/focDE* ve *afa/draBC* genlerine rastlanmamıştır (Johnson et al., 2004).

Gerçekleştirilen virülans skorlamasında 8 adet virülans genine birden sahip olan bir izolat yoktur; bir izolatta gözlenen en az virülans geni sayısı 0, en fazla ise 5'dir. B2 filogenetik grubuna ait izolatların virülans skorunun daha yüksek olduğu belirlenmiştir. B2 grubunu B1, D ve A grupları takip etmektedir.

Genel olarak B2 ve D gruplarının virülans skorlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Ejraes et al., 2011; Johnson et al., 2001a; Johnson and Russo, 2005); yaptığımız karşılaştırmada ise B1 filogenetik grubuna ait izolatların, D grubuna ait izolatlardan daha yüksek virülans skoruna sahip olduğu belirlenmiştir; aynı durum virülans genleri ile filogenetik gruplama karşılaştırmasında da gözlemlenmiştir.

Piyelonefrit (n = 23), prostatit (n = 17) ve sistit (n = 23) örneklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, benzer bir şekilde B1 filogenetik grubuna ait izolatların D grubuna ait izolatlardan daha yüksek virülans skoruna sahip olduğu belirtilmiştir. Bu durum, yatay gen transferi ile ilişkilendirilmiştir. Aynı çalışmada, A filogenetik grubu, D filogenetik grubundan daha sık olarak gözlemlenmiştir (Johnson et al., 2005a; Johnson et al., 2001b).

Piyelonefrit izolatlarında, sistite karşılaştırıldığında virülans genleri daha sık görülmektedir (Johnson et al., 2005b). Bu fark daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir fakat bizim çalışmamızda bu fark belirlenememiştir (Johnson et al., 2005a). Bu durumun en olası nedeni, çalışmamızda sadece adezin virülans genlerinin çalışılmış olmasıdır; çalışmamızda 8 tane adezin virülans geni kullanılmışken, Johnson ve ark.'nın çalışmasında farklı sınıflara ait 31 adet genetik belirteç kullanılmıştır. Dolayısı ile virülans genleri dağılımının enfeksiyon tiplerine göre olan farkını yakalama ihtimali daha fazla olmuştur.

Sistit ve piyelonefrit konusunda Johnson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 76 fekal, 83 sistit ve 170 piyelonefrit örneği karşılaştırılmıştır; piyelonefrit izolatlarının sistite; sistit izolatlarının ise kommensal örneklerle göre virülans skorunun daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Johnson et al., 2005b).

Adezin virülans genleri kendi içerisinde kıyaslandığı zaman, *papAH* ile *sfa/focDE* ($P = 0,048$)'nin; *papAH* ile *gafD* ($P = 0,044$)'nin; *bmaE* ile *gafD* ($P = 0,014$)'nin ve *sfa/focDE* ile *focG* ($P = 0,000$)'nin kendi içerisinde sıklığının arttığı belirlenmiştir. Bulgularımız, bu konuda yapılmış daha önceki çalışmaları destekleyici niteliktedir (Dobrindt et al., 2001; Johnson and Stell, 2000; Johnson et al., 2001b).

Ürosepsis izolatları ile gerçekleştirilen bir çalışmada, 29 virülans geni incelenmiştir. *papAH* ile *sfa/focDE* arasında ve *sfa/focDE* ile *focG* arasında pozitif korelasyon görülmüştür. *gafD* ve *bmaE* genlerinde ise korelasyondan bahsedilmemiştir (Johnson et al., 2001a).

Çalışmamızda *afa/draBC* ile *iha* geni arasında yüksek oranda istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($P = 0,000$); *iha* geninin sıklığı ile *afa/draBC* geninin sıklığı doğru orantılıdır. Elde ettiğimiz veriler bazı çalışmalar ile uyumludur (Bauer et al., 2002); bazı çalışmalarda ise bu iki genin sıklığı arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Johnson et al., 2000a).

Bauer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, üç farklı gen (*iha*, *usp* ve *iroN*) ÜSE izolatları ve ÜSE izolatı olmayan izolatlarla karşılaştırılmıştır. Ayrıca, bu üç farklı gen çeşitli ürovirülans genleri ile de karşılaştırılmıştır. *iha* geni bulunan izolatlarda dr adezin geninin de bulunduğu bildirilmiştir (Bauer et al., 2002). Virülans faktörlerinin, PA ve plazmit vasıtası ile aktarıldıkları ve bu genetik elemanlar dahilinde genetik ilişkilerinin bulunduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Dobrindt et al., 2001; Johnson and Russo, 2005; Oelschlaeger et al., 2002).

Adezin virülans genleri cinsiyete ile karşılaştırıldığında *papAH* geninin kadınlarda daha sık görüldüğü saptanmıştır. Erkek piyelonefrit hastalarının sıklığının kadınlara göre daha sık olmasına rağmen, kadın hastalarda *papAH* geni daha sık olarak gözlemlenmiştir ($P = 0,021$). Yapılan daha önceki çalışmalarla, çalışmamızda elde edilen veriler uygunluk göstermektedir (Skjot-Rasmussen et al., 2012). Bu nedenle bulgularımız ÜSE patojenezinin kadın ve erkeklerde farklı olduğu; iki farklı cinsiyette enfeksiyon oluşturabilmek için farklı özelliklerin gerekli olabileceği hipotezini doğrulayıcı niteliktedir (Ruiz et al., 2002).

Üriner sistem kökenli bakteriyemi ve hastane – toplum kökenli enfeksiyonların virülans faktör dağılımını inceleyen bir çalışmada, 3 farklı genin (*tss*, *papAH* ve *iron*) cinsiyetle ilgili olduğu gösterilmiştir. *papAH* geni, kadın hastalarda daha sık görülmüştür (Skjot-Rasmussen et al., 2012).

Sistit ve piyelonefrit hastalarında saptanan virülans faktörleri farklılık gösterebilmesine rağmen, ÜSE için tek bir virülans faktörü veya virülans profilinden bahsedilemeyeceği görülmüştür (Ferjani et al., 2012; Johnson et al., 2005b). Çalışmamızda, piyelonefrit izolatlarında adezin genlerinden *papAH*' in görülme sıklığının daha fazla olduğu saptanmıştır ($P = 0,005$). Bu fark, daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir (Bien et al., 2012; Johnson et al., 2005a; Lane and Mobley, 2007; Wiles et al., 2008).

Belirlenen tek *bmaE* pozitif izolat, D filogenetik grubuna aittir. Belirlenen 2 *gafD* pozitif izolatlardan biri D, diğeri ise A filogenetik grubunda bulunmaktadır; *gafD* pozitif izolatlardan birisi *bmaE* genine de sahiptir. Aynı zamanda, *bmaE* ve *gafD* genlerine sahip izolatlar, piyelonefrit izolatlarıdır. *bmaE*' nin A filogenetik grubuyla ilgisi olabileceğine ve sayılan iki genin de piyelonefrit ile ilişkili olabileceğine daha önceki bir çalışmada değinilmiştir (Johnson et al., 2005a).

Çalışmamızda *iha* geni, hastane kökenli enfeksiyonlarda daha sık görülmüştür. Diğer virülans genleriyle ise anlamlı ilişki bulunmamıştır. Literatür taramasında genin hastane - toplum kökenli enfeksiyonlar arasında sıklığının değiştiğine dair bir yorum belirlenmemiştir.

Bakteriyemi ile ilgili yapılan çalışmada da söz konusu genin hastane ve toplum kökenli enfeksiyonlarda sıklığında bir fark bulunamadığı görülmüştür. Fakat *papAH* geninin toplum kökenli enfeksiyonlarda daha sık, hastane kökenli enfeksiyonlarda ise daha seyrek görüldüğü bildirilmiştir (Skjot-Rasmussen et al., 2012).

Bizim çalışmamızda *iha* geninin hastane enfeksiyonları ile ilişkili bulunması coğrafi faktörlere bağlı olabileceği gibi, hastane enfeksiyonlarında genellikle aynı kökenlerin bulunmasına da bağlı olabilir. Bu nedenle, pulsed – field jel elektroforezi (PFGE) veya randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) gibi sistemler ile izolatların kökenlerinin araştırılması gerekmektedir. Böylece, organizmaların aynı veya farklı kökenden oluşlarına göre genin direk olarak hastane enfeksiyonları ile ilişkisinin olup olmadığı konusunda daha anlamlı yorumlar yapılabilecektir.

Yaş ile yapılan karşılaştırmalarda bir fark bulunamamıştır; nitekim yaş grupları hem homojen dağılmamakta, hem de gruplandığında grupların karşılaştırma gücü gruplardaki örnek sayısı çok farklı olduğundan düşmektedir. Yaş ile virülans genlerinin direk ilişkisini inceleyen bir çalışma bulunamamıştır fakat hamile kadınlar ile üriner sistem anomalisi bulunan çocuklarda karşılaştırma yapan çalışma mevcuttur (Poey et al., 2012). Ayrıca, erkek yeni doğanlarda bakteriyemik ÜSE virülans faktörlerinin prevalansını araştıran çalışma bulunmaktadır (Bonacorsi et al., 2006).

Cinsiyet ile yapılan skorlamada ise anlamlıya yakın bir fark gözlemlenmiştir ($P = 0,075$). Kadın hastalardan izole edilen örneklerde daha çok virülans faktörü bulunma ihtimalinin yüksek olduğu düşünülmüştür. Bunun nedeni, erkek hastalardaki ÜSE' nin komplike olmasıdır. Üriner sisteminde anomali bulunan ve/ veya immün sistemde baskılanma olan hastalarda gelişen ÜSE' de etken olan *E. coli*' nin ExPEC üyesi olma ihtimali komplike olmayan enfeksiyonlardan daha düşüktür (Sobel and Kaye, 2009). Dolayısı ile daha az sayıda urovirülans faktörü gözlemlenebilir.

Virülans genleri ile antibiyotik direnci arasındaki bağlantı incelendiğinde, bazı genlerin prevalansının duyarlı izolatlarda daha sık olduğu belirlenmiştir. Amoksisilin/klavulonik asit, amikasin, gentamisin, nalidiksik asit, norfloksasin, sefazolin, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, siprofloksasin, trimetoprim/sulfametoksazol antibiyotiklerine dirençli ve GSBL pozitif olan izolatlarda, *sfa/focDE* geni daha az sıklıkta bulunmuştur. Dolayısı ile *sfa/focDE* geninin duyarlı suşlarda daha sık görüldüğü söylenebilir. *focG*, *fimH* ve *papAH* genlerinin görülme sıklığı da benzer bir şekilde duyarlı suşlarda daha yüksektir. *focG* geni nalidiksik asit, norfloksasin, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, siprofloksasin direnci ve GSBL pozitifliği ile ters orantılı bulunmuştur. *papAH* geni sefotakasime dirençli izolatlarda, *fimH* geni ise amoksisilin/klavulonik asite dirençli izolatlarda daha az sıklıkta saptanmıştır

Az sayıda virülans genine sahip organizmaların, daha fazla antibiyotik direncine sahip olduğu yönünde çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda kinolon, florokinolon,

trimetoprim/sulfametoksazol direnci ve GSBL pozitifliği ile virülans genlerinin sıklığı araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda *sfa/focDE*, *focG*, *fimH* ve *papAH* genlerinin prevalansının, duyarlı izolatlarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Horcajada et al., 2005; Lavigne et al., 2006; Moreno et al., 2006; Johnson et al., 2003). Çalışmamızda elde edilen veriler, daha önceki çalışmalar ile bu genler dahilinde uygunluk göstermektedir.

Moreno ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, toplam 150 üropatojen incelenmiştir. Kinolona, florokinolona ve trimetoprim/sulfametoksazole duyarlı izolatlar, dirençli izolatlar ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, florokinolona duyarlılar başta olmak üzere, kinolon ve trimetoprim/sulfametoksazole duyarlı izolatlar, daha fazla virülans genine sahiptirler. Çalışmamızda bulunan genlerden *sfa/focDE*, *papAH* ve *fimH* dirençli izolatlarda anlamlı olarak daha az bulunurken; *afa/draBC*' de fark belirlenmemiştir (Moreno et al., 2006).

Horcajada ve arkadaşlarının B2 filogenetik grubuna ait 85 izolatta gerçekleştirdiği çalışmada, 64 nalidiksik asit dirençli, 21 duyarlı; 30 ampisilin dirençli, 55 duyarlı; 81 gentamisin dirençli ve 4 duyarlı izolat çeşitli virülans genleri açısından incelenmiştir. Nalidiksik asite duyarlı izolatlarda, *sfa/focDE* geni daha sık görülmüştür; *bmaE* ve *gafD* ise dirençli izolatlarda daha sık belirlenmiştir. Gentamisine duyarlı izolatlarda ise *fimH* daha sık görülmüştür. Adezin virülans genleri ile ampisilin arasında bir bağlantı belirlenmemiştir (Horcajada et al., 2005).

bmaE ve *gafD* genleri ise prevalansları düşük olduğu için (1 adet *bmaE*, 2 adet *gafD* pozitif örnek) ilişkilendirilememiştir; iki gen de piyelonefrit hastasından izole edilen bakterilerde belirlenmiştir. *gafD* pozitif olan örneklerden biri, *bmaE* de pozitifdir.

İlginç bir şekilde, *afa/draBC* ve *iha* için bu durum geçerli değildir; *iha* geninin sıklığı ampisilin, amoksisilin/klavulonik asit, sefuroksim, seftriakson, nalidiksik asit direnci ve GSBL pozitifliği ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmaktadır. Bu artış *afa/draBC* geninde ise sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, trimetoprim/sulfametoksazole dirençli ve GSBL pozitif izolatlarda belirlenmiştir.

Daha önceki çalışmalarda, *afa/draBC* geninin sıklığının istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, antibiyotik direnci yüksek izolatlarda fazla olduğu belirtilmiştir (Johnson and Stell, 2000). Ayrıca, *iha* geni için de böyle bir artıştan bahseden yayınlar mevcuttur (Takahashi et al., 2009).

Fosfomisine ve nitrofurantoine dirençli örneklerin az olması, muhtemel ilişkilerin istatistiksel olarak belirlenebilmesini engellemektedir; fakat elde edilen veriler anlamlı olmasa da duyarlı izolatlarda genlerin daha sık görüldüğü gözlemlenebilmektedir.

Tetrasiklin direnci ile virülans genleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte *fimH* ve *sfa/focDE* genlerinin duyarlı izolatlarda daha sık bulunduğu görülmüştür.

Antibiyotik direnci ile filogenetik grup karşılaştırıldığında, GSBL pozitif ve amikasin dirençli izolatlar B2 grubunda daha sık görülmüştür. Ayrıca, fosfomisin dirençli izolatlar istatistiksel olarak anlamlıya yakın derecede B2 filogenetik grubunda daha sık gözlemlenmiştir. Tetrasiklin direncinde ise tam tersi bir eğilim mevcuttur; tetrasikline duyarlı izolatlar, B2 filogenetik grubunda daha sık görülmüştür.

Kinolon ve florokinolon grubu antibiyotiklere dirençli izolatların B2 filogenetik grubunda beklenenden daha yoğun görüldüğü bazı çalışmalar bildirilmiştir. Örnek sayısının ve jeolojik varyasyonların bu sonucu doğrulayabileceği düşünülmüştür. (Johnson et al., 2003; Takahashi et al., 2009).

Virülans skoru ile antibiyotik direnci karşılaştırıldığında, sadece gentamisin duyarlı izolatlarda belirlenen fark anlamlıdır; gentamisin duyarlı izolatların virülans skoru daha yüksektir. Diğer antibiyotikler ile fark görülmemesinin sebebinin çalışılan virülans geni sayısı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada, gentamisin duyarlı izolatlarda virülans genlerine daha sık rastlandığı belirlenmiştir (Johnson et al., 2004).

Çoklu direnç ile virülans genleri karşılaştırıldığında, dirençli izolatlarda *afa/draBC* geninin sıklığı artarken *papAH*, *sfa/focDE* ve *focG* genlerinin sıklığı azalmıştır. Yapılan daha önceki bir çalışmada *afa/draBC* geni haricinde, bulgularımız ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. *afa/draBC* geni için ise dirençli olan bir ve duyarlı olan bir izolat olmasından dolayı, herhangi bir farktan bahsedilmemiştir (Johnson et al., 2004).

Çoklu direnç ile filogenetik grupların dağılımı karşılaştırıldığında, anlamlı bir fark elde edilmemiştir. Aynı çalışmada ise duyarlı izolatlarda B2 filogenetik grubunun diğer gruplara oranla daha yoğun gözlemlendiği belirtilmiştir (Johnson et al., 2004).

Toplam 76 çoklu direnci olan örnek ile 76 kontrol grubunun karşılaştırıldığı çalışmada, Çoklu direnci olan izolatların hem baskın olarak B2 grubu dışı gruplara ait olduğu, hem de virülans skorlarının daha düşük olduğu belirtilmiştir. Ayrıca *papAH*, *sfa/focDE*, *kpsM II*, *hlyD* ve *fimH* genlerinin duyarlı izolatlarda dirençli izolatlara oranla daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Benzer bir şekilde, bu genlere sahip olan izolatların çoğunlukla B2 filogenetik grubuna ait oldukları bulunmuştur (Johnson et al., 2004).

Türkiye’ de virülans faktörlerinin sıklığını belirlemeye yönelik bazı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların bir kısmı moleküler olup (Arisoy et al., 2006; Arisoy et al., 2008; Giray et al., 2012) çoğunluğunda adezin virülans faktörlerini belirlemek için

aglutinasyon sistemlerinden yararlanılmıştır (Fidan ve ark., 2006; Hoşgör ve ark., 2000; İnan ve Gürler, 2004; Uluutku ve ark., 1996).

Türkiye’ de yapılan moleküler çalışmalar ele alındığında, Arısoy ve arkadaşlarının çocuklardan izole edilen 161 izolat ile yaptığı bir çalışmada P ve S fimbria, afimbrial adezin, hemolizin, sitotoksik nekrotizan faktör 1 ve aerobaktin virülans faktörlerine ait genlerin sıklığı çoklu PZT yöntemi ile belirlenmiştir. En az bir tane virülans geni içeren 94 izolat belirlenmiştir. *pap* geninin sıklığı %22,98; *sfa* %6,21 ve *afaI* geninin sıklığı %9,94 olarak bulunmuştur (Arısoy et al., 2006).

Arısoy ve arkadaşlarına ait başka bir çalışmada ise farklı pediatrik popülasyondaki genlerin sıklığıyla antibiyotik dirençleri karşılaştırmıştır. Toplam 136 izolatta aynı genler ile trimetoprim/ sulfametoksazol, tobramisin, sefalotin, seftriakson ve siprofloksasin dirençleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, virülans genlerinin dirençli suşlarda direnci arttırdığı; duyarlı suşlarda ise duyarlılığı arttırdığı belirtilmiştir (Arısoy et al., 2008).

Giray ve arkadaşlarının çalışması *pap* geni alelleri üzerinedir. Ayrıca, izolatların filogenetik grup sıklıklarını belirlemiştir (Giray et al., 2012).

Korkut’ un gerçekleştirdiği tez çalışmasında, ÜSE etkeni olan 50 *E. coli* izolatında ve sağlıklı bireylerin dışkılarından izole edilen 50 *E. coli* izolatında *pap*, *sfa* ve *afa* adezinlerini kodlayan operonlar çoklu PZT yöntemi ile araştırılmıştır. ÜSE izolatlarının %16’ sı *pap* pozitif, %8’ i *afa* pozitif olarak; dışkı izolatlarının ise %8’ i *pap* pozitif, %4’ ü *sfa* pozitif ve %2’ si *afa* pozitif olarak bulunmuştur (Korkut, 2003).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada, adezin virülans genlerinin sıklığının filogenetik gruplar, antibiyotik dirençleri ve hasta verileriyle ilişkileri incelenmiştir. Aynı zamanda filogenetik grupların antibiyotik dirençleri ve hasta verileriyle ilişkileri de araştırılmıştır.

Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda, en sık görülen adezin virülans geni *fimH*; en az görülen ise *bmaE*' dir.

Çeşitli virülans genlerinin birbirleri ile ilişkili olabileceği daha önceki çalışmalar ile uyumlu bir şekilde gösterilmiştir.

Bazı genlerin bazı antibiyotiklere duyarlı izolatlarda daha sık görüldüğü belirlenmiştir. Bazı genler ise dirençli izolatlarda daha sık görülmektedir.

Filogenetik gruplar arasında, sahip olunan virülans skorları arasında farklar bulunmaktadır. En yüksek skora sahip olan filogenetik grup B2' dir.

Cinsiyet ile *papAH* geninin sıklığı farklılık göstermektedir; kadın hastalarda *papAH* geni daha sık görülmektedir.

iha geninin hastane enfeksiyonları ile ilişkisinin görülmesi, yaptığımız çalışma ardından çıkarılan en önemli sonuçtur; bu genin hastane enfeksiyonları ile ilişkisi daha detaylı bir şekilde araştırılması gereken bir konudur.

Çalışmamızda, üriner sistemden izole edilen ExPEC' de adezin virülans genlerinin sıklığı ve çeşitli parametrelerle ilişkileri araştırılmıştır. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, ülkemizde adezin virülans genleri ile antibiyotik direnci ilişkisinin araştırıldığı en kapsamlı çalışmadır.

Günümüzde, mevcut olan antibiyotiklerin çoğuna klinik olarak anlamlı derecede direnç gelişmiştir. Yeni antibiyotik sınıflarının geliştirilmesi ise artan ihtiyacın gerisinde kalmaktadır. Virülans genlerinin ve bu genlerin sıklığının belirlenmesi, anti-virülans faktörü sistemlerin oluşturulabilmesi için yapılması gereken ilk basamaktır; henüz kullanıma geçmese de örnekleri görülmektedir (Clatworthy et al., 2007). Bu nedenle, virülans genlerinin sıklığını inceleyen çalışmaların artması, antibiyotik ile ilgili gelişmelerde ve hedefe yönelik antibiyotik uygulamalarında daha güvenilir ve net yaklaşımların oluşmasında büyük önem taşımaktadır.

7. EKLER

8. KAYNAKÇA

- ARISOY, M., AYSEV, D., EKIM, M., OZEL, D., KOSE, E. D., OZSOY, E. D. , AKAR, N. 2006. Detection of virulence factors of *Escherichia coli* from children by multiplex polymerase chain reaction. *Int J Clin Pract*, 60(2) 170-173.
- ARISOY, M., RAD, A. Y., AKIN, A. , AKAR, N. 2008. Relationship between susceptibility to antimicrobials and virulence factors in paediatric *Escherichia coli* isolates. *Int J Antimicrob Agents*, 31 Suppl(1) 4-8.
- ASADI KARAM, M. R., OLOOMI, M., MAHDAVI, M., HABIBI, M. , BOUZARI, S. 2013. Vaccination with recombinant fimH fused with flagellin enhances cellular and humoral immunity against urinary tract infection in mice. *Vaccine*, 31(8) 1210-1216.
- ASPEVALL, O., HALLANDER, H., GANT, V. , KOURI, T. 2001. European Guidelines for Urinalysis: A collaborative document produced by European Clinical Microbiologists and Clinical Chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. *Clin Microbiol Infect*, 7(4) 173-178.
- BARTLETT, J. M. S. , STIRLING, D. S. 2003. *PCR Protocols*, Totowa, N.J., Humana Press.
- BAUER, R. J., ZHANG, L., FOXMAN, B., SIITONEN, A., JANTUNEN, M. E., SAXEN, H. , MARRS, C. F. 2002. Molecular epidemiology of 3 putative virulence genes for *Escherichia coli* urinary tract infection-usp, iha, and iroN(*E. coli*). *J Infect Dis*, 185(10) 1521-1524.
- BIEN, J., SOKOLOVA, O. , BOZKO, P. 2012. Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. *Int J Nephrol*, 2012 (1) 1 - 15.
- BONACORSI, S., HOUDOUIN, V., MARIANI-KURKDJIAN, P., MAHJOUR-MESSAI, F. , BINGEN, E. 2006. Comparative prevalence of virulence factors in *Escherichia coli* causing urinary tract infection in male infants with and without bacteremia. *J Clin Microbiol*, 44(3) 1156-1158.
- BRZUSZKIEWICZ, E., BRUGGEMANN, H., LIESEGANG, H., EMMERTH, M., OLSCHLAGER, T., NAGY, G., ALBERMANN, K., WAGNER, C.,

- BUCHRIESER, C., EMODY, L., GOTTSCHALK, G., HACKER, J. , DOBRINDT, U. 2006. How to become a uropathogen: comparative genomic analysis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains. Proc Natl Acad Sci U S A, 103(34) 12879-12884.
- CLATWORTHY, A. E., PIERSON, E. , HUNG, D. T. 2007. Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. Nat Chem Biol, 3(9) 541-548.
- CLERMONT, O., BONACORSI, S. , BINGEN, E. 2000. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. Applied and Environmental Microbiology, 66(10) 4555-4558.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty second informational supplement, Wayne, USA.
- COOKE, N. M., SMITH, S. G., KELLEHER, M. , ROGERS, T. R. 2010. Major differences exist in frequencies of virulence factors and multidrug resistance between community and nosocomial *Escherichia coli* bloodstream isolates. J Clin Microbiol, 48(4) 1099-1104.
- DOBRINDT, U., BLUM-OEHLER, G., HARTSCH, T., GOTTSCHALK, G., RON, E. Z., FUNFSTUCK, R. , HACKER, J. 2001. S-fimbria-encoding determinant *sfa(I)* is located on pathogenicity island III(536) of uropathogenic *Escherichia coli* strain 536. Infect Immun, 69(7) 4248-4256.
- EJRNAES, K., STEGGER, M., REISNER, A., FERRY, S., MONSEN, T., HOLM, S. E., LUNDGREN, B. , FRIMODT-MOLLER, N. 2011. Characteristics of *Escherichia coli* causing persistence or relapse of urinary tract infections: phylogenetic groups, virulence factors and biofilm formation. Virulence, 2(6) 528-537.
- FERJANI, S., SAIDANI, M., ENNIGROU, S., HSAIRI, M. , BEN REDJEB, S. 2012. Virulence determinants, phylogenetic groups and fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolated from cystitis and pyelonephritis. Pathol Biol (Paris), 60(5) 270-274.
- FİDAN, I., YÜKSEL, S., SİPAHİ, A. B., ÖZKAN, S., SULTAN, N. 2006. Üriner sistem infeksiyonlarından etken olarak izole edilen *Escherichia coli* suşlarının hemagglütinasyon ve hemolizin üretimi. Ankem Derg, 20(1) 22 – 25.
- FORBES, B. A., SAHM, D. F. , WEISSFELD, A. S. 2007. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. St. Louis, Mo.: Elsevier Mosby.

- FOXMAN, B. 2002. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med*, 113 Suppl 15-13.
- GARCIA, L. S. , ISENBERG, H. D. 2007. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Washington, DC, ASM Press.
- GIRAY, B., UÇAR, F. B. , AYDEMİR, S. Ş. 2012. Characterization of uropathogenic *Escherichia coli* strains obtained from urology outpatient clinic of Ege Medical Faculty in İzmir. *Turk J Med Sci*, 42(1) 1328 - 1337.
- GONZALEZ, C. M. , SCHAEFFER, A. J. 1999. Treatment of urinary tract infection: what's old, what's new and what works. *World J Urol*, 17(6) 372-382.
- GORDON, D. M., CLERMONT, O., TOLLEY, H. , DENAMUR, E. 2008. Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. *Environ Microbiol*, 10(10) 2484-2496.
- GRABE, M., BJERKLUND JOHANSEN, T. E., BOTTO, H., ÇEK, M., NABER, K. G., PICKARD, P., TENKE, P., WAGENLEHNER, F. , WULLT, B. 2013. Guidelines on urological infections.
- GRUDE, N., POTATURKINA-NESTEROVA, N. I., JENKINS, A., STRAND, L., NOWROUZIAN, F. L., NYHUS, J. , KRISTIANSEN, B. E. 2007. A comparison of phylogenetic group, virulence factors and antibiotic resistance in Russian and Norwegian isolates of *Escherichia coli* from urinary tract infection. *Clin Microbiol Infect*, 13(2) 208-211.
- HACKER, J., BLUM-OEHLER, G., MUHLDOERFER, I. , TSCHAPE, H. 1997. Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. *Mol Microbiol*, 23(6) 1089-1097.
- HERZER, P. J., INOUE, S., INOUE, M. , WHITTAM, T. S. 1990. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 172(11) 6175-6181.
- HIGGINS, J., HOHN, C., HORNOR, S., FRANA, M., DENVER, M. , JOERGER, R. 2007. Genotyping of *Escherichia coli* from environmental and animal samples. *J Microbiol Methods*, 70(2) 227-235.
- HOOTON, T. M., BRADLEY, S. F., CARDENAS, D. D., COLGAN, R., GEERLINGS, S. E., RICE, J. C., SAINT, S., SCHAEFFER, A. J., TAMBAYH, P. A., TENKE, P. , NICOLLE, L. E. 2010. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 international clinical practice

- guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 50(5) 625-663.
- HORAN, T. C., ANDRUS, M. , DUDECK, M. A. 2008. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*, 36(5) 309-332.
- HORCAJADA, J. P., SOTO, S., GAJEWSKI, A., SMITHSON, A., JIMENEZ DE ANTA, M. T., MENSA, J., VILA, J. , JOHNSON, J. R. 2005. Quinolone-resistant uropathogenic *Escherichia coli* strains from phylogenetic group B2 have fewer virulence factors than their susceptible counterparts. *J Clin Microbiol*, 43(6) 2962-2964.
- HOŞGÖR, M., COŞAR, G., ERMERTCAN, Ş., ÇARIKÇI, A. Y. 2000. Üropatojen *Escherichia coli* kökenlerinin bazı virülans özellikleri. *İnfeksiyon Derg*, 14(2) 225-228.
- HULL, R., RUDY, D., DONOVAN, W., SVANBORG, C., WIESER, I., STEWART, C. , DAROUICHE, R. 2000. Urinary tract infection prophylaxis using *Escherichia coli* 83972 in spinal cord injured patients. *J Urol*, 163(3) 872-877.
- IEBBA, V., CONTE, M. P., LEPANTO, M. S., DI NARDO, G., SANTANGELO, F., ALOI, M., TOTINO, V., CHECCHI, M. P., LONGHI, C., CUCCHIARA, S. , SCHIPPA, S. 2012. Microevolution in fimH gene of mucosa-associated *Escherichia coli* strains isolated from pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Infect Immun*, 80(4) 1408-1417.
- İNAN, U. N., GÜRLER, N. 2004. İdrar yolu infeksiyonu olan çocuklardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci ve çeşitli virülans faktörlerinin araştırılması. *Ankem Derg*, 18(2) 89 – 96.
- JOHNSON, J. R. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev*, 4(1) 80-128.
- JOHNSON, J. R., DELAVARI, P., KUSKOWSKI, M. , STELL, A. L. 2001a. Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. *J Infect Dis*, 183(1) 78-88.
- JOHNSON, J. R., KUSKOWSKI, M. A., GAJEWSKI, A., SAHM, D. F. , KARLOWSKY, J. A. 2004. Virulence characteristics and phylogenetic background of multidrug-resistant and antimicrobial-susceptible clinical isolates of *Escherichia coli* from across the United States, 2000-2001. *J Infect Dis*, 190(10) 1739-1744.

- JOHNSON, J. R., KUSKOWSKI, M. A., GAJEWSKI, A., SOTO, S., HORCAJADA, J. P., JIMENEZ DE ANTA, M. T. , VILA, J. 2005a. Extended virulence genotypes and phylogenetic background of *Escherichia coli* isolates from patients with cystitis, pyelonephritis or prostatitis. *J Infect Dis*, 191(1) 46-50.
- JOHNSON, J. R., KUSKOWSKI, M. A., OWENS, K., GAJEWSKI, A. , WINOKUR, P. L. 2003. Phylogenetic origin and virulence genotype in relation to resistance to fluoroquinolones and/or extended-spectrum cephalosporins and cephamycins among *Escherichia coli* isolates from animals and humans. *J Infect Dis*, 188(5) 759-768.
- JOHNSON, J. R., O'BRYAN, T. T., KUSKOWSKI, M. , MASLOW, J. N. 2001b. Ongoing horizontal and vertical transmission of virulence genes and papA alleles among *Escherichia coli* blood isolates from patients with diverse-source bacteremia. *Infect Immun*, 69(9) 5363-5374.
- JOHNSON, J. R., OWENS, K., GAJEWSKI, A. , KUSKOWSKI, M. A. 2005b. Bacterial characteristics in relation to clinical source of *Escherichia coli* isolates from women with acute cystitis or pyelonephritis and uninfected women. *J Clin Microbiol*, 43(12) 6064-6072.
- JOHNSON, J. R. , RUSSO, T. A. 2002. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: "The other bad *E. coli*". *J Lab Clin Med*, 139(3) 155-162.
- JOHNSON, J. R. , RUSSO, T. A. 2005. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol*, 295(6-7) 383-404.
- JOHNSON, J. R., RUSSO, T. A., TARR, P. I., CARLINO, U., BILGE, S. S., VARY, J. C., JR. , STELL, A. L. 2000a. Molecular epidemiological and phylogenetic associations of two novel putative virulence genes, iha and iroN(*E. coli*), among *Escherichia coli* isolates from patients with urosepsis. *Infect Immun*, 68(5) 3040-3047.
- JOHNSON, J. R. , STELL, A. L. 2000. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J Infect Dis*, 181(1) 261-272.
- JOHNSON, J. R., STELL, A. L., SCHEUTZ, F., O'BRYAN, T. T., RUSSO, T. A., CARLINO, U. B., FASCHING, C., KAVLE, J., VAN DIJK, L. , GAASTRA, W. 2000b. Analysis of the F antigen-specific papA alleles of extraintestinal

- pathogenic *Escherichia coli* using a novel multiplex PCR-based assay. *Infect Immun*, 68(3) 1587-1599.
- KAPER, J. B., NATARO, J. P. , MOBLEY, H. L. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, 2(2) 123-140.
- KHAN, A. S., KNIEP, B., OELSCHLAEGER, T. A., VAN DIE, I., KORHONEN, T. , HACKER, J. 2000. Receptor structure for F1C fimbriae of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 68(6) 3541-3547.
- KORKUT, N. K. 2003. Üropatojen *Escherichia coli* suşlarında ve barsak florasında bulunan kommensal *Escherichia coli* suşlarında pap, sfa ve afa adezinleri kodlayan operonların saptanması. Tez(Doktora), İstanbul Üniversitesi.
- LANE, M. C. , MOBLEY, H. L. 2007. Role of P-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in the mammalian kidney. *Kidney Int*, 72(1) 19-25.
- LANGERMANN, S., MOLLBY, R., BURLEIN, J. E., PALASZYNSKI, S. R., AUGUSTE, C. G., DEFUSCO, A., STROUSE, R., SCHENERMAN, M. A., HULTGREN, S. J., PINKNER, J. S., WINBERG, J., GULDEVALL, L., SODERHALL, M., ISHIKAWA, K., NORMARK, S. , KOENIG, S. 2000. Vaccination with fimH adhesin protects cynomolgus monkeys from colonization and infection by uropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis*, 181(2) 774-778.
- LAVIGNE, J. P., BLANC-POTARD, A. B., BOURG, G., MOREAU, J., CHANAL, C., BOUZIGES, N., O'CALLAGHAN, D. , SOTTO, A. 2006. Virulence genotype and nematode killing properties of extraintestinal *Escherichia coli* producing CTX-M beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect*, 12(12) 1199-1206.
- MAMIKOĞLU, L. , İNAN, D. 2008. İdrar Yolu Enfeksiyonları. In: WILLKE TOPÇU, A., SÖYLETİR, G., DOĞANAY, M. (ed.) *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*.1487-1508 İstanbul: Nobel Tıp.
- MOKADY, D., GOPHNA, U. , RON, E. Z. 2005. Virulence factors of septicemic *Escherichia coli* strains. *Int J Med Microbiol*, 295(6-7) 455-462.
- MORENO, E., PRATS, G., SABATE, M., PEREZ, T., JOHNSON, J. R. , ANDREU, A. 2006. Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother*, 57(2) 204-211.
- MULVEY, M. A. 2002. Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiol*, 4(5) 257-271.

- NICOLLE, L. E. 2001. Urinary tract pathogens in complicated infection and in elderly individuals. *J Infect Dis*, 183 Suppl 15-8.
- NICOLLE, L. E., BRADLEY, S., COLGAN, R., RICE, J. C., SCHAEFFER, A., HOOTON, T. M., INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF, A., AMERICAN SOCIETY OF, N. , AMERICAN GERIATRIC, S. 2005. Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin Infect Dis*, 40(5) 643-654.
- OELSCHLAEGER, T. A., DOBRINDT, U. , HACKER, J. 2002. Pathogenicity islands of uropathogenic *E. coli* and the evolution of virulence. *Int J Antimicrob Agents*, 19(6) 517-521.
- PICARD, B., GARCIA, J. S., GOURIOU, S., DURIEZ, P., BRAHIMI, N., BINGEN, E., ELION, J. , DENAMUR, E. 1999. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. *Infect Immun*, 67(2) 546-553.
- PITOUT, J. D. 2012. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: A combination of virulence with antibiotic resistance. *Front Microbiol*, 3(9) 1 - 7.
- PITOUT, J. D., LAUPLAND, K. B., CHURCH, D. L., MENARD, M. L. , JOHNSON, J. R. 2005. Virulence factors of *Escherichia coli* isolates that produce CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 49(11) 4667-4670.
- POEY, M. E., ALBINI, M., SAONA, G. , LAVINA, M. 2012. Virulence profiles in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pregnant women and children with urinary tract abnormalities. *Microb Pathog*, 52(5) 292-301.
- ROBERTS, J. A., MARKLUND, B. I., ILVER, D., HASLAM, D., KAACK, M. B., BASKIN, G., LOUIS, M., MOLLBY, R., WINBERG, J. , NORMARK, S. 1994. The Gal(alpha 1-4)Gal-specific type adhesin of *Escherichia coli* P-fimbriae is needed for pyelonephritis to occur in the normal urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(25) 11889-11893.
- RUIZ, J., SIMON, K., HORCAJADA, J. P., VELASCO, M., BARRANCO, M., ROIG, G., MORENO-MARTINEZ, A., MARTINEZ, J. A., JIMENEZ DE ANTA, T., MENSA, J. , VILA, J. 2002. Differences in virulence factors among clinical isolates of *Escherichia coli* causing cystitis and pyelonephritis in women and prostatitis in men. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(12) 4445-4449.

- RUSSO, T. A. , JOHNSON, J. R. 2000. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: EXPEC. J Infect Dis, 181(5) 1753-1754.
- SKJOT-RASMUSSEN, L., EJRNAES, K., LUNDGREN, B., HAMMERUM, A. M. , FRIMODT-MOLLER, N. 2012. Virulence factors and phylogenetic grouping of *Escherichia coli* isolates from patients with bacteraemia of urinary tract origin relate to sex and hospital vs. community-acquired origin. Int J Med Microbiol, 302(3) 129-134.
- SOBEL, J. D. , KAYE, D. 2009. Urinary tract infections. In: MANDELL, G. L., BENNETT, J. E. & DOLIN, R. (eds.) Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7. ed.957 - 986 Philadelphia, PA: Churchill Livingstone : MD Consult.
- TAKAHASHI, A., MURATANI, T., YASUDA, M., TAKAHASHI, S., MONDEN, K., ISHIKAWA, K., KIYOTA, H., ARAKAWA, S., MATSUMOTO, T., SHIMA, H., KURAZONO, H. , YAMAMOTO, S. 2009. Genetic profiles of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* isolates obtained from patients with cystitis: phylogeny, virulence factors, PAIusp subtypes and mutation patterns. J Clin Microbiol, 47(3) 791-795.
- 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. Int J Infect Dis, 17(6) 450 - 453.
- TENAILLON, O., SKURNIK, D., PICARD, B. , DENAMUR, E. 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol, 8(3) 207-217.
- ULUUTKU, M., ÇÖPLÜ, N., GÖL, N., ULUUTKU, S., GÜVENER, E. 1996. Üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının virülans faktörlerinin incelenmesi. 53(1) 19 – 24.
- WAGENLEHNER, F. M. , NABER, K. G. 2000. Hospital-acquired urinary tract infections. J Hosp Infect, 46(3) 171-181.
- WARREN, J. W., ABRUTYN, E., HEBEL, J. R., JOHNSON, J. R., SCHAEFFER, A. J. , STAMM, W. E. 1999. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Infectious Diseases Society of America (IDSA). Clin Infect Dis, 29(4) 745-758.
- WILES, T. J., KULESUS, R. R. , MULVEY, M. A. 2008. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. Exp Mol Pathol, 85(1) 11-19.

- WINN, W. J., STEPHEN, A., JANDA, W., KONEMAN, E. W., PROCOP, G., SCHRECKENBERGER, P. , WOODS, G. 2005. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Philadelphia, Pa. ; London, Lippincott Williams & Wilkins.
- YAMAMOTO, S., TSUKAMOTO, T., TERAJ, A., KURAZONO, H., TAKEDA, Y. , YOSHIDA, O. 1997. Genetic evidence supporting the fecal-perineal-urethral hypothesis in cystitis caused by *Escherichia coli*. J Urol, 157(3) 1127-1129.

9. ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Doğanhan Kadir ER

Doğum Yeri ve Tarihi : 14.05.1988

Uyruđu : TC

Medeni Durumu : Bekâr

Askerlik Durumu : Tecilli

İletişim Adresi ve Telefonu : Atalar Mahallesi Alaaddin Yüksel Caddesi Sahilkent Sitesi 1/6 Körfez, KOCAELİ - (0554) 637 24 36

E – posta : doganhan_er@yahoo.com

2. Eğitim Bilgileri

Lisans : 2007 – 2011 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans : 2011 – Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Öğrencisi

Yabancı Dili : İngilizce

3. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türkiye Mikrobiyoloji Cemiyeti (2012 –)

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneđi (2012 –)

4. Bilimsel Etkinlikler

Poster Sunumları

1. KARADENİZLİ, A., TÜRKER, G., UZUNER, H., ER, D. K., KOLAYLI, F., ORUÇ, M., OĞUZ, D.; Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Ortaya Çıkan Konjunktivit Salgınında Adenovirus Araştırılması ve Moleküler Yöntemle Tiplendirilmesi. 35. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Poster no: 155, 3 – 7 Kasım 2012, Aydın.
2. ÖZDEMİR, L., KARADENİZLİ, A., UZUNER, H., ER, D. K.; Türkiye'de İlk Kez Besi Hayvanlarında ve Bakıcılarında Çiftlik Hayvanları ile İlişkili Metisine Dirençli *Staphylococcus aureus* (LA – MRSA) Kolonizasyonunun Araştırılması. 35. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Poster no: , 3 – 7 Kasım 2012, Aydın.
3. KARADENİZLİ, A., OZDEMİR, L., ER, D. K., UZUNER, H.; Survival of *Francisella tularensis* in Amies Agar with Charcoal under Different Temperature Conditions. International Symposium on *Francisella tularensis* and Tularemia, Poster no: 26, June 19 – 22 2013, Nevşehir, Turkey.
4. KARADENİZLİ, A., GURBUZ, Y. S., OZDEMİR, L., ER, D. K., UZUNER, H., ERCİN, C.; Detection of *Francisella tularensis* DNA in Paraffin Embedded Appendix Tissue Samples by RT TaqMan PCR. International Symposium on *Francisella tularensis* and Tularemia, Poster no: 39, June 19 – 22 2013, Nevşehir, Turkey.
5. OZEL, E., KOLAYLI, F., OZTURK, E., ER, D. K.; Antibacterial Activity of Different Mouthrinses Against Oral Streptococci: An *in vitro* Study. 18th Congress of the Balkan Stomatological Society, Poster no:231 April 25 – 28 2012, Skopje, Macedonia.

Sözlü Sunumlar

1. TUNA – INCE, E. B., KOLAYLI, F., OZEL, E., ER, D. K.; *In vitro* Antibacterial Activity of Various Adhesive Materials Against Oral Streptococci. 24th Congress of International Association of Paediatric Dentistry (IAPD), No: O 13-85, June 12 – 15 2013, Seul, Korea.