

***Escherichia coli* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK  
DİRENÇLİLİĞİ VE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN  
ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE AND  
BIOFILM FORMATION IN *Escherichia coli* STRAINS**

**GİZEM GÜVEN**

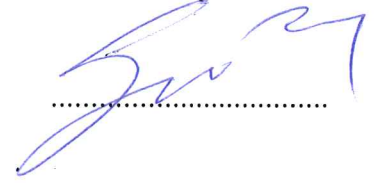
**DOÇ. DR. İŞİL SEYİS BİLKAY**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
olarak hazırlanmıştır.

**GİZEM GÜVEN**'in hazırladığı "*Escherichia coli* Suşlarında Antibiyotik Dirençliliği ve Biyofilm Oluşumunun Araştırılması" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

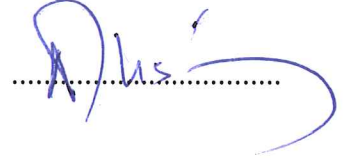
Prof. Dr., Emir Cansunar  
Başkan



Doç. Dr., Işıl Seyis Bilkay  
Danışman



Prof. Dr., Nilüfer Aksöz  
Üye



Prof. Dr., Güven Uraz  
Üye



Prof. Dr., Nilüfer Cihangir  
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlerle bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

10/01/2015

GİZEM GÜVEN

## ÖZET

### ***Escherichia coli* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ VE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN ARAŞTIRILMASI**

**Gizem GÜVEN**

**Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Işıl SEYİS BİLKAY**

**Ocak 2015, 77 Sayfa**

İnsan ve hayvanlarda doğal flora elemanı olarak bulunan *E. coli*, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların da en sık rastlanılan etkenleri arasında bulunmaktadır. *E. coli* suşları canlı veya cansız yüzey alanlara kolonize olarak biyofilm tabakası oluşturabilmektedir.

Belirli bir yüzey alana tutunmuş olan mikroorganizmaların birarada yaşamalarıyla oluşturdukları biyofilm tabakasının üst katmanları bariyer görevi üstlenerek antimikrobiyal ajanlara karşı mikroorganizmaları korumakta ve direnç gelişimini arttırmaktadır. Biyofilm oluşumunun önüne geçilmesini sağlamak, antimikrobiyal dirençliliğin artışının önlenmesi için son derece önemlidir.

Çalışmamızda Ankara'daki bir hastanenin çeşitli servis ve klinik materyallerinden izolasyonu gerçekleştirilen *E. coli* suşlarının fenotipik yöntemlerle teşhisi gerçekleştirildi. Suşların izole edildiği hastaların yaşlarına ve cinsiyetlerine göre dağılım oranları saptandı. *E. coli* suşlarının Amikasin, Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam, Sefoksitin, Siprofloksasin, Ertapenem, Gentamisin, İmipenem, Meropenem, Piperasilin-Tazobaktam, Trimetropim-Sulfometoksazol antibiyotiklerine karşı dirençlilikleri incelenerek antibiyotip profilleri belirlendi. Suşların biyofilm oluşturma oranları belirlenerek antibiyotik dirençlilikleri ile karşılaştırıldı.

*E. coli* suşlarının en yüksek oranda; hastane servis ünitesi olarak Acil Servis'ten, klinik materyal olarak idrar'dan, yaş grubu olarak 31-45 yaş aralığından ve cinsiyet olarak ise

kadın hastalardan izole edildikleri belirlendi. *E. coli* suşlarının 13 antibiyotiğe karşı 18 farklı antibiyotip profili sergiledikleri gözlemlendi. En yüksek sıklıktaki antibiyotip profili ANT1 (%48) olarak belirlendi ve ANT1 antibiyotipinin bütün antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu saptandı. Ec3 suşu ise tüm *E. coli* suşları arasında en yüksek antibiyotik dirençliliği ve en yüksek biyofilm oluşumu gösteren suş olarak belirlendi ve 13 antibiyotikten Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam, Sefoksitin, Siprofloksasin, Piperasilin-Tazobaktam ve Trimetropim-Sulfometoksazol antibiyotiklerine karşı direnç gelişimi gözlemlendi. Ec 3 suşunun antibiyotip profili ANT12 olarak belirlendi.

En yüksek biyofilm oluşumu gözlenen bir diğer suş olan Ec33 suşunda 13 antibiyotikten hiçbir antibiyotiğe karşı direnç gelişimi gözlenmedi ve antibiyotip sınıfı ANT1 olarak belirlendi.

**Anahtar kelimeler:** *Escherichia coli*, Biyofilm, Antibiyotik dirençliliği, EPS

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE AND BIOFILM FORMATION IN *Escherichia coli* STRAINS**

**Gizem GÜVEN**

**Master of Science, Department of Biology**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Işıl SEYİS BİLKAY**

**January 2015, 77 Pages**

*E. coli*, which is found in human and animals' natural flora, is also the most common factor of the community and hospital-acquired infections. *E. coli* strains could form a biofilm layer by colonising on organic or inorganic surface areas.

Upper layers of biofilm layer formed by grouping of microorganisms stuck to a specific surface area protect microorganisms against antimicrobial agents by forming a barrier and enhance the development of resistance. Prevention of biofilm formation is extremely important for prevention of increase in antimicrobial drug resistance.

In this study, *E. coli* strains isolated from different services and clinical materials from a hospital located in Ankara were identified by means of phenotypical methods. Distribution of these strains according to age and gender of the patients were determined. Resistance of *E. coli* strains to Amikacin, Ampicillin-Sulbactam, Cefazolin, Cefepime, Cefoperazone-Sulbactam, Cefoxitin, Ciprofloxacin, Ertapenem, Gentamicin, Imipenem, Meropenem, Piperacillin-Tazobactam, Trimethoprim-Sulfamethoxazole antibiotics were investigated and antibiotic patterns were determined. Biofilm formation rates of these strains were calculated and compared with antimicrobial resistances.

*E. coli* strains were determined to be isolated most frequently from; Emergency Unit among hospital service units, from urine as clinical material, from the age group 31-45 and from female patients as gender. It was observed that *E. coli* strains form 18 different

antibiotypes against 13 antibiotics. The most frequent antibiotic profile was determined as ANT1 (48%), where ANT1 antibiotic profile is sensitive to all antibiotics. Ec3 strain was found to have the highest antibiotic resistance and the highest biofilm formation among all the *E. coli* strains used in the study, by developing resistance to Ampicillin-Sulbactam, Cefazolin, Cefepime, Cefoperazone-Sulbactam, Cefoxitin, Ciprofloxacin, Piperacillin-Tazobactam and Trimethoprim-Sulfamethoxazole antibiotics among 13 different antibiotics. The antibiotic profile of Ec 3 strain was determined as ANT12.

It was observed that Ec33 strain, another strain that was observed to have the highest biofilm formation, did not develop resistance towards any of 13 antibiotics, and its class of antibiotic profile was determined as ANT1.

**Keywords:** *Escherichia coli*, Biofilm, Antibiotic resistance, EPS

## TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalında geçirdiğim süre boyunca desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her alanda anlayışı ve hoşgörüsü ile yanımda olduğunu hissettiğim tez danışmanı hocam Doç. Dr. Işıl Seyis BİLKAY'a;

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteklerini her zaman hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Nilüfer AKSÖZ ve Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR'e;

Staj dönemimde ve tez çalışmamda birlikte çalışma olanağı bulduğum; samimiyeti, güler yüzlüğü ve engin bilgisi ile her zaman öğrenme ve öğretme tutkusu içinde olan değerli hocam Doç Dr. Abbas TANER'e;

Her anımda yanımda olan, uzağımda olsa da varlığını hep en yakınımda hissettiğim, canım dostum, tez yoldaşım Sebahat TEKCAN DÜĞENCİ'ye;

Biyoteknoloji Ana Bilim Dalında geçirdiğim süre boyunca her zaman yanımda olan, okul hayatı boyunca ve geçirdiğimiz kıymetli zamanlarda güzel anılar paylaştığım çok değerli arkadaşlarım Özgecan ERDEM, Kübra ERKAN, Hamideh HAMMAMCHİ, Niloofar BOUSTAN, Solat REZAI, Gözde KOŞARSOY, Hasan AKYIL ve Demet ERDÖNMEZ'e;

Başta Gülcan ÖZBAKIR olmak üzere tüm Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı Hocalarıma ve öğrencilerine;

Hayatım boyunca kararlarımın her zaman en büyük destekçileri olan, attığım her adımda bana sonuna kadar güvenen, sonsuz sevgilerini ve desteklerini her koşulda yanımda hissettiğim, onların evlatları olduğum için gurur duyduğum annem ve babam Zerrin YAŞAL ve Lemi YAŞAL'a;

En yakın arkadaşım, dostum, sırdaşım, hayatımın tamamında varlığı ve sevgisiyle hep en yakınımda olan geleceğin İnşaat Mühendisi adayı birtanecik kardeşim Gülfem YAŞAL'a;

Hayatımın en özeli, gülüşüyle kalbimi sıcacık yapan, bana sonsuz sevgisi ve desteğini bir an bile esirgmeden her zaman, her anımda yanımda olan yoldaşım, birlikte yürüdüğüm yol arkadaşım, kıymetli eşim Halil İbrahim GÜVEN'e;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	3
2.1.1. <i>E. coli</i> Suşlarının Biyokimyasal Özellikleri.....	4
2.1.2. <i>E. coli</i> Suşlarının Antijenleri.....	5
2.1.3. <i>Escherichia coli</i> Enfeksiyonları.....	5
2.1.4. <i>E. coli</i> Suşlarının Virulans Faktörleri.....	7
2.2. Biyofilm.....	9
2.2.1. Biyofilmin Tanımı ve Tarihçesi.....	9
2.2.2. Biyofilmin Yapısı.....	10
2.2.3. Biyofilm Oluşumunu Etkileyen İç ve Dış Faktörler.....	11
2.3. Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturma Nedenleri.....	11
2.4. Biyofilm Oluşum Aşamaları.....	12
2.5. Biyofilm Yapısındaki Hücreler Arası İletişim (Quorum Sensing=Çoğunluğu Algılama).....	14
2.6. Biyofilm Bakterisi ve Planktonik Bakteri Karşılaştırılması.....	17
2.7. Biyofilmler ile İlgili Enfeksiyonlar.....	17
2.8. Yararlı Biyofilmler.....	18
2.9. Çalışmada Kullanılan Antibiyotikler .....	18
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	23
3.1. Çalışmada Kullanılan Bakteriler.....	23
3.2. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının Tanımlanması.....	23

3.2.1. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının Koloni Morfolojisinin Araştırılması.....	23
3.2.2. Endo Agar Besiyerinde Laktoz Fermentasyonunun Saptanması.....	24
3.2.3. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının Gram Boyama Metoduyla Mikroskopik Olarak İncelenmesi .....	25
3.2.4. Diğer Biyokimyasal Testler.....	26
3.2.4.1. İndol Testi.....	26
3.2.4.2. Metil Kırmızısı Testi.....	26
3.2.4.3. Sitrat Testi.....	27
3.2.4.4. TSI (Üç Şekerli Demir) Testi.....	28
3.2.4.5. Üreaz Testi.....	29
3.3. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının Servislere Göre Dağılım Oranlarının Saptanması.....	30
3.4. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının İzole Edildikleri Klinik Materyallere Göre Dağılım Oranlarının Saptanması.....	30
3.5. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Yaşlarına Göre Dağılım Oranlarının Saptanması.....	31
3.6. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetine Göre Dağılım Oranlarının Saptanması.....	31
3.7. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması.....	31
3.7.1. <i>E. coli</i> Suşlarında Antibiyotik Direnç Oranlarının Hesaplanması.....	32
3.7.2. <i>E. coli</i> Suşlarında Antibiyotiplerin Belirlenmesi ve Antibiyotip Oranlarının Hesaplanması.....	33
3.8. <i>E. coli</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumu.....	33
3.8.1. <i>E. coli</i> Suşlarında “Kalitatif Cam Tüp Testi” İle Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi.....	33
3.8.2. <i>E. coli</i> Suşlarında “Kantitatif Mikrodilüsyon Plak Testi” İle Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi.....	34
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	37
4.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma.....	38
4.2. <i>Escherichia coli</i> Suşlarının Servislere Göre Dağılım Oranlarının Hesaplanması.....	39

4.3. <i>E. coli</i> Suşlarının İzole Edildikleri Klinik Materyallere Göre Dağılım Oranlarının Hesaplanması.....	41
4.4. <i>E. coli</i> Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Yaşlarına Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	43
4.5. <i>E. coli</i> Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetine Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	44
4.6. <i>E. coli</i> Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi.....	46
4.7. <i>E. coli</i> Suşlarının Antibiyotip Sınıflarının Belirlenmesi ve Antibiyotip Oranlarının Hesaplanması.....	49
4.8. <i>E. coli</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumu.....	52
4.9. <i>E. coli</i> Suşlarının Biyofilm Oluşturmaları ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması.....	55
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	77

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Acil S.	Acil Servis
AI	Autoinducer
AIPs	Autoinducing Peptides
Aile H.	Aile Hekimliği
AHL	Açil Homoserin Lakton
AK	Amikasin
ANT	Antibiyotip
Ca	Kalsiyum
CIP	Siprofloksasin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CN	Gentamisin
CZ	Sefazolin
Çocuk C.	Çocuk Cerrahisi
Ç.S.H.	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
EAggEC	Enteroagregativ <i>Escherichia coli</i>
EHEC	Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>
EMB	Eosin Metilen Blue
E.M.H.	Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları
EPEC	Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
EPS	Exracellular Polymeric Substance
ETEC	Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
ETP	Ertapenem
FEP	Sefepim
FOX	Sefoksitin
Genel C.	Genel Cerrahi
H <sub>2</sub> S	Hidrojen Sülfür
İç H.	İç Hastalıkları
IPM	İmipenem
Kadın H.	Kadın Hastalıkları
Kar.	Kardiyoloji
Lab.	Laboratuvar

MEM	Meropenem
ml	Mililitre
N.	Nöroşirurji
OD	Optical Density
PBS	Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponu)
PVC	Polivinilklorid
SAM	Ampisilin-Sulbaktam
SCF	Sefoperazon-Sulbaktam
SEM	Scanning Electron Microscope
SXT	Trimetropim-Sulfometoksazol
TSI	Triple Sugar Iron (Üç Şekerli Demir)
TZP	Piperasilin-Tazobaktam
UV	Ultraviyole
Üro.	Üroloji

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Escherichia coli</i> 'nin SEM (Scanning Electron Microscopy)'deki görüntüsü.....	3
Şekil 2.2. <i>E. coli</i> 'nin EMB (Eosin Metilen Blue Agardaki görüntüsü ve metalik röfle oluşumu).....	4
Şekil 2.3. <i>E. coli</i> 'nin Kanlı Agardaki görüntüsü.....	4
Şekil 2.4. Biyofilmlerin oluşum aşamaları .....	12
Şekil 2.5. Biyofilm oluşum mekanizması ve kanallar arası iletişim .....	14
Şekil 2.6. Bakteri hücreleri arasındaki otoindüksiyon.....	15
Şekil 2.7. Gram negatif bakterilerde açıl homoserin laktonlar .....	16
Şekil 3.1. <i>E. coli</i> 'nin Eosin Metilen Blue Laktoz Sukroz Agar (a) ve Koyun Kanlı Agar (b)'daki koloni morfolojisi.....	24
Şekil 3.2. <i>Escherichia coli</i> 'nin Endo Agar besiyerindeki laktoz fermentasyonu sonuçları.....	25
Şekil 3.3. <i>E. coli</i> Türünün Gram boyamadan sonraki mikroskopik görüntüsü.....	25
Şekil 3.4. İndol testi sonuçları.....	26
Şekil 3.5. Metil Kırmızısı testi sonuçları (A; pozitif, B; negatif).....	27
Şekil 3.6. Sitrat testi sonuçları (A; negatif, B; pozitif).....	28
Şekil 3.7. <i>Escherichia coli</i> 'nin TSI Besiyerinde üremesi.....	29
Şekil 3.8. Üre hidrolizi testi sonuçları (A; negatif, B; pozitif).....	30
Şekil 3.9. Kalitatif cam tüp yöntemiyle biyofilm oluşumunun gözlenmesi.....	34
Şekil 3.10. İnkübasyonun ardından plakta oluşan kültürler.....	34
Şekil 3.11. Kültürler plaktan uzaklaştırıldıktan sonra %1'lik kristal viyole çözeltisi ile boyanması.....	35
Şekil 3.12. Kristal viyole çözeltisinin negatif kontrollerde boya artığı kalmayıp temizlenene kadar fosfat tamponu ile yıkanması.....	35
Şekil 3.13. Yıkama işlemi tamamlanan plaklara 1ml etanol çözeltisinin eklenmesi.....	36
Şekil 4.1. <i>E. coli</i> suşlarının servislere göre dağılım oranları.....	40
Şekil 4.2. <i>E. coli</i> suşlarının klinik materyallere göre dağılım oranları.....	42

Şekil 4.3. <i>E. coli</i> suşlarının hasta yaş aralıklarına göre dağılım oranları.....	43
Şekil 4.4. <i>E. coli</i> suşlarının hastaların cinsiyetlerine göre dağılım oranları.....	45
Şekil 4.5. <i>E. coli</i> suşlarında antibiyotik direnç oranları.....	47
Şekil 4.6. <i>E. coli</i> suşlarının antibiyotiklere göre dağılımı.....	51
Şekil 4.7. <i>E. coli</i> suşlarında biyofilm oluşumu.....	54

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> familyasına ait mikroorganizmaların tedavisinde kullanılan antimikrobiyaller.....	19
Çizelge 3.1. Antibiyotik Zon Çapı Tablosu.....	32
Çizelge 4.1. <i>E. coli</i> suşlarının Antibiyotip Sınıfları.....	49
Çizelge 4.2. <i>E. coli</i> Suşlarında Biyofilm Sınıfları.....	53
Çizelge 4.3. <i>E. coli</i> Suşlarında Antibiyotik Dirençliliği ve Biyofilm Oluşumunun Karşılaştırılması.....	55



# 1. GİRİŞ

*E. coli* günümüzde toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli etkenleri arasında bulunan bir mikroorganizma türüdür. *E. coli*'nin vücutta normal flora elemanı olması, antimikrobiyal ajanlara karşı kolay ve hızlı direnç gelişiminin gözlenmesi ve sahip olduğu virulans faktörleri; yüksek oranda enfeksiyon etkeni olarak izole edilmesinin nedenlerini oluşturmaktadır [1]. Tüm bu etkenler *E. coli* suşlarının canlı veya cansız yüzey alanlara tutunmasını ve biyofilm oluşumunu arttırmaktadırlar. [2].

Biyofilm tabakası; canlı veya cansız bir yüzeye kolonize olarak, belirli bir yapısal bütünlük içinde toplu halde yaşayan ve varlıklarının devamı için birbirleriyle çeşitli sinyal mekanizmaları aracılığıyla haberleşen mikroorganizma topluluklarının oluşturduğu yapılardır [3], [4], [5], [6], [7], [8].

Biyofilm oluşumu gözlenen mikroorganizma toplulukları ekstraselüler polimerik materyal veya ekzopolisakkarit (EPS) olarak da bilinen bir matriks tabakası içerisinde gömülü olarak bulunmaktadır [4]. Ekstraselüler polimerik materyal (EPS), biyofilm tabakasında mikroorganizmaların hücre dışına salgıladıkları ve onları bir arada tutan yapıdır [5]. Olgun bir biyofilm formasyonunda ekzopolisakkarit materyal (EPS) biyofilm kütesinin %75 ila 90'ını oluşturabilmektedir. Biyofilm matriksinin yapı materyali olan ekzopolisakkarit tabakasının jel oluşturma, absorpsiyon, kolonizasyon, koruma ve savunma gibi pek çok görevi bulunmaktadır [6].

Mikroorganizmaların biyofilm oluşturan formları, serbest halde bulunan formlarına kıyasla pH değişikliklerine, antibiyotiklere, oksijen radikallerine, dezenfektanlara, fagositoza ve besin yokluğuna karşı çok daha dirençli halde bulunmaktadır [7].

Antimikrobiyal ajanların günümüzde endüstri, tarım, sağlık sektörü gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılması ile mikroorganizmaların antimikrobiyal direnç oranları giderek artmaktadır. Bunun yanı sıra aynı veya farklı türden mikroorganizmaların bir araya gelerek biyofilm tabakası oluşturmaları ile mikroorganizmalar birbirleri ile gen alışverişinde bulunabilmekte ve böylece antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençli suşlar oluşabilmektedir. Biyofilm tabakasının gelişip olgunlaşması ile ekzopolisakkarit tabaka içerisinde üreyen mikroorganizmaların, biyofilm yüzeyinde bulunan mikroorganizmalara kıyasla antimikrobiyallere karşı direnç gelişiminin arttığı gözlenmektedir [8], [9].

Bu bağlamda çalışmamızda çeşitli klinik materyallerden izole edilen *E. coli* suşlarının fenotipik yöntemlerle teşhisi, klinik verilere göre sınıflandırılması, antibiyotik dirençlilikleri ve antibiyotip sınıfları ile biyofilm oluşumlarının belirlenmesi amaçlandı. *E. coli* Suşlarının izole ettiği Servis ve Klinik Materyal ile izole edilen hastanın yaşı ve cinsiyetine göre sınıflandırma yapıldı. Klinik verilere göre yapılan bu sınıflandırmanın ardından suşların, kullanılan antibiyotiklere karşı dirençlilikleri belirlendi. Aynı antibiyotik özellikleri sergileyen suşlar aynı antibiyotip grubuna dahil edildi. Antibiyotik dirençlilikleri belirlenen suşların biyofilm oluşumları araştırıldı. Klinik veriler ve antibiyotik dirençlilikleri ile biyofilm oluşumları birbirleriyle karşılaştırıldı.

Bu çalışmaların sonunda en yüksek biyofilm oluşumu ve en yüksek antibiyotik dirençliliği gözlenen suş olarak Ec3 suşu belirlendi.

## 2. GENEL BİLGİ

### 2.1. *Escherichia coli*

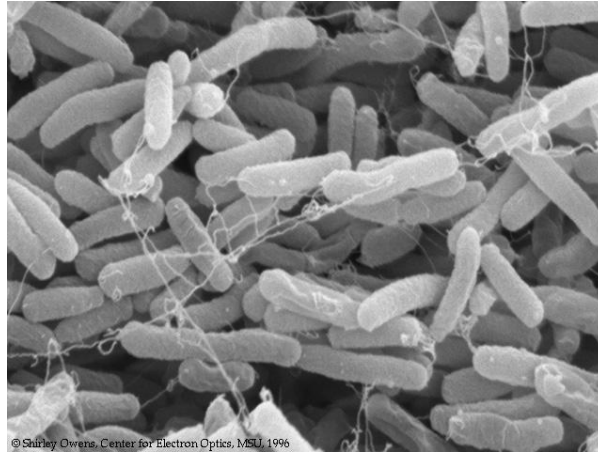
İlk kez Theodor Escherich tarafından 1885 yılında ishali sütün çocuklarının dışkılarından izole edilen *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae* familyası içerisinde yer almaktadır [10]. İlk olarak *Bacterium coli commune* ismi ile tanınan bu mikroorganizmaya 1919 yılında Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia coli* adı verilmiştir [11].

1950'li yıllarda ise insan sağlığı için hastalık etkeni olan ilk *E. coli* suşu bulunmuş ve Enteropatojenik *E. coli* ismi verilmiştir.

1980'li yıllarda *E. coli*'nin O:157 H:7 serotipi Amerika Birleşik Devletlerinde yaşanan kanlı ishal salgınından sonra tanımlanarak Enterohemorajik *E. coli* grubuna dahil edilmiştir [12].

Sıcakkanlı hayvanların ve insanların normal bağırsak florasını oluşturan bakteriler arasında bulunan *E. coli* biyolojik sınıflandırma olarak; *Eubacteria* alemi, *Proteobacteria* şubesi, *Gamma Proteobacteria* sınıfı, *Enterobacteriales* takımı ve *Enterobacteriaceae* ailesinde yer almaktadır. [12], [13].

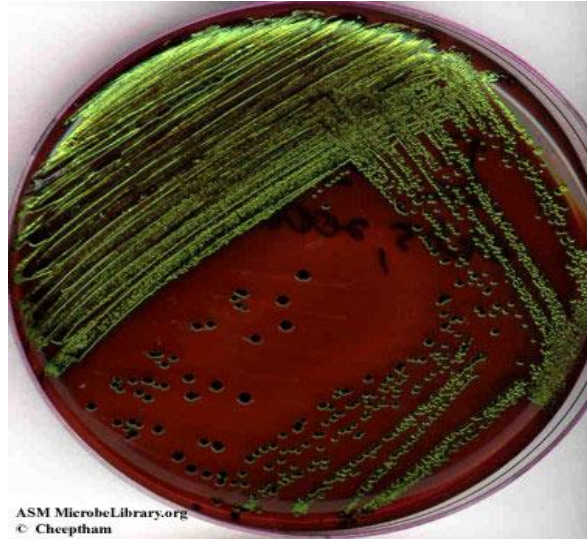
*E. coli* 2-6 µm boyutunda, 1-1,5 µm çapında, Gram negatif, çomak şeklindeki spor oluşturmeyen bakterilerdir. Peritriş flagellaları sayesinde hareket özelliği göstermekle birlikte ender olarak hareketsiz özellik gösteren suşları da bulunmaktadır. *E. coli* suşlarında kapsül oluşturma yeteneği nadir olarak gözlenmektedir [14]. Şekil 2.1' de *E. coli*'nin SEM (Scanning Electron Microscopy)'deki görüntüsü verilmiştir [15].



Şekil 2.1. *Escherichia coli*'nin SEM (Scanning Electron Microscopy)'deki görüntüsü [15].

### 2.1.1. *E. coli* Suşlarının Biyokimyasal Özellikleri

*E. coli* suşları Genel Üretim Besiyerlerinde, 2-3 mm çapında hafif kabarık, düzgün kenarlı grimsi beyaz koloniler; Kanlı Agarda 2-3 mm çapında, gri koloniler; Mac Conkey Agarda 2-3 mm çapında, pembe-kırmızı laktoz pozitif koloniler; Eosin Metilen Blue Agarda ise metalik röfle veren laktoz pozitif koloniler oluşturmaktadırlar [14], [16]. Şekil 2.2’ de *E. coli*’nin Eosin Metilen Blue Agardaki metalik röfle oluşumu [17], Şekil 2.3’te ise *E. coli*’nin Kanlı Agardaki görüntüsü görülmektedir [18].



Şekil 2.2. *E. coli*’nin EMB (Eosin Metilen Blue Agardaki görüntüsü ve metalik röfle oluşumu) [17].



Şekil 2.3. *E. coli*’nin Kanlı Agardaki görüntüsü [18].

*E. coli* suşları karbonhidrat fermentasyonu ile asit ve gaz oluşturmaktadırlar. Besiyerinde bulunan laktozu kullanarak laktoz fermentasyonu yapabilmektedirler ve diğer laktoz fermentasyonu yapan bakterilerden indol oluşumunun gözlenmesi ile ayırt edilebilmektedirler [14]. Zenginleştirilmiş besiyerlerinde fakültatif anaerop olarak üreme gösteren *E. coli* suşlarının önemli biyokimyasal özellikleri nitratı nitrite indirgemesi, katalaz, indol, metil kırmızısı deneylerinin pozitif; oksidaz, Voges Proskauer, Hidrojen sülfür oluşumu deneylerinin negatif olması, üreaz enzimi bulunmadığından dolayı üreaz oluşturmaması, KCN (Potasyum Siyanid)' li ortamda üreme yeteneğinin olmaması, jelatini hidroliz etmemesi, ve nişastalı besiyerinde gaz oluşumunun gözlenmemesi olarak açıklanabilmektedir [19], [20].

### **2.1.2. *E. coli* Suşlarının Antijenleri**

*E. coli*'nin somatik (O), kirpik (H), kapsül (K) ve fimbria (F) antijenleri bulunmaktadır.

Somatik antijen (O) alkol, ısı ve kaynatmaya karşı dayanıklıdır. Lipopolisakkarit yapısında ve formole dayanıksız en önemli hücre duvarı antijendir.

Kirpik antijenleri (H) hareketli kökenlerde bulunmaktadır. Formole karşı dayanıklı, 100°C ısıtılmaya ve alkole karşı ise dayanıksızdır.

Kapsül antijenleri (K) polisakkarit yapısında olup ısıya dayanıklıdır. 100°C ila 120°C'de bir iki saat kaynatmakla ortadan kaldırılabirler. [21].

### **2.1.3. *Escherichia coli* Enfeksiyonları**

Normal koşullar altında doğal flora elemanı olarak bilinen *E. coli* suşları insan ve hayvanlarda gastrointestinal ve ekstraintestinal sistem enfeksiyonlarına neden olabilmektedir [16]. Üriner sistem enfeksiyonları, yeni doğan menenjit, bağırsak enfeksiyonları ve nasokomiyal enfeksiyonlar bu enfeksiyonların başlıcalarını oluşturmaktadır [22].

Üriner sistem enfeksiyonları (idrar yolu enfeksiyonları, İYE) insan ömrü boyunca en sık karşılaşılan enfeksiyonlardan biri olarak bilinmektedir. *E. coli* komplikasyon gözlenmeyen sistit ve piyelonefrit olgularından sorumlu olan mikroorganizmadır [23]. İdrar yolu enfeksiyonlarının en sık gözleendiği hasta grubu 20-40 yaşları arasındaki kadınlardır. Cinsel yönden aktif ve vajinal tampon kullanan kadınlarda daha fazla sıklıkla enfeksiyon

gözlenmektedir [24]. Üropatojenik *E. coli* olarak bilinen serotipi bu enfeksiyonların çoğunda rol oynamaktadır [25].

Yaşamın ilk aylarında görülen yeni doğan menenjitinin en sık rastlanılan etkeni *E. coli* olarak bilinmektedir. Yetişkin *E. coli* menenjitinin aksine yeni doğanlarda K1 kapsül antijeni bu enfeksiyonla ilişkilidir. Menenjit olgularından izole edilen *E. coli*'lerin %75'i K1 antijeni içermektedir [26].

İnsan ve hayvanların kolon florasında normal flora elemanı olarak bulunan *E. coli*'nin bazı suşları diyareye neden olmaktadır [27]. Bağırsak hastalığının en sık bulaşma yolu kontamine besinler ve sularla olmak üzere fekal-oral yoldur [28].

Patojenite mekanizmalarındaki farklılıklara göre bağırsak enfeksiyonlarında rol oynayan beş tip *E. coli* tanımlanmıştır [29].

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), bebeklerde enterit, yetişkinlerde ise seyahat diyaresi olarak bilinen hastalığın etkenidir. Sulu diyare ile belirti veren hastalıkta su kaybına neden olan faktörler ısıya duyarlı toksin (LT) ve ısıya dirençli toksin (ST) olmak üzere iki tiptir. ETEC ile kontamine olmuş suların içilmesi ve iyi yıkanmamış sebze-meyvelerin yenmesi ile mikroorganizma vücuda alınmaktadır. 1-2 günlük inkübasyonun ardından sulu ishal ve karın krampları görülmektedir. İntestinal mukozada ise histolojik bir değişim gözlenmemektedir [11].

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), hijyen koşullarının kötü olduğu yerlerdeki bebeklerde ve çocuklarda görülen diyarelerin en önemli etkenlerindendir. Sulu, mukuslu ve kanlı diyareye sebep olan enfeksiyon ince bağırsak mukoza hücrelerini enfekte ederek mikrovilluslarda yapısal bozukluklara ve karakteristik lezyonların oluşumuna neden olmaktadır [27].

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), nadir görülen *E. coli* enfeksiyon etkenlerindendir. Kolon epiteline yerleşip zarar vererek sulu ve bol lökositli diyareye neden olmakta, ateş ve kanlı dışkılamayla seyreden dizanteri benzeri bir tablo oluşturmaktadır [12].

Enteroagregatif *E. coli* (EAggEC), gelişmekte olan tropik ülkelerdeki Persistan (14 günden fazla süren) çocuk diyarelerinin etkenidir. Yetişkinlerde ise seyahat diyaresi olarak literatürde geçmektedir. İnce bağırsaklarda enfeksiyon oluşturan EaggEC suşlarının toksin salgılama özellikleri yoktur [12].

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), gelişmiş ülkelerdeki beş yaşın altındaki çocuklarda görülen sulu ve kanlı diyare enfeksiyonlarının en büyük etkenidir. Kusma hastalığının seyrinde gözlenebilmektedir. Bu hastalık için esas kaynağı sığırlar oluşturmaktadır. Bu nedenle sütün pastörizasyonunun sağlanması ve etlerin iyi pişirilmesi ile hastalığın önlenmesi mümkün olabilmektedir. Bu grubun bir diğer özelliği de Vero (Afrika yeşil maymun böbreği) doku kültürlerindeki hücrelere sitotoksik etkisi olan bir toksin üretmesidir. Bu toksine verotoksin adı verilmektedir. *E. coli* O157:H7 serotipi, verotoksin üreten *E. coli* serotipleri arasında en sık rastlanılanıdır [30].

*E. coli* bu hastalıklar dışında solunum yolu enfeksiyonları, nosokomiyal enfeksiyonlar, yeni doğan menenjitleri, yara enfeksiyonları, göz ve çevresinde oluşan iltihaplanmalar, karın zarı iltihaplanması, eklemlerde oluşan yangılı enfeksiyonlar, karaciğer absesi, kalp kapakçığı hastalıkları, kemik dokunun iltihaplanması, prostatit ve sinüzit gibi bir çok enfeksiyonda da etken olarak görülebilmektedir [17].

#### **2.1.4. *E. coli* Suşlarının Virulans Faktörleri**

Virulans, mikroorganizmanın hastalık oluşturma yeteneğidir. Yapısal, işlevsel ve bağışıklık sisteminde bir sorun bulunmayan konakta mikroorganizmanın miktarı ve virulans faktörleri enfeksiyon gelişmesini tetiklemektedir [31]. Başlıca virulans faktörleri şunlardır:

**Adezinler:** *E. coli* suşlarında elektron mikroskopisi ve eritrosit aglütinasyonu yöntemleri ile fonksiyonel ve morfolojik olarak birbirlerinden farklı çeşitli fimbriya türleri tanımlanmıştır [32]. *E. coli* Tip I ve Tip II fimbriyaları bunlardan bazılarıdır. *E. coli* fimbriyaları mikroorganizmanın canlı veya cansız yüzeye tutunması ve yapışmasından (adhezyon) sorumludur. Adezin maddesi içeren ve yüzeye tutunmayı sağlayan *E. coli* fimbriyaları biyofilm oluşumunu arttırmaktadır. Her bir *E. coli* suşu adhezin maddesi içeren 100 - 200 fimbriya taşıyabilmektedir. Fimbriya kaynaklı hücre yüzeyine tutunmanın *E. coli* enfeksiyonlarında önemli bir virulans faktörü olduğu bilinmektedir [33].

**Endotoksin:** Aerobik Gram negatif bakterilerin tümü ve anaerobik Gram negatif bakterilerin bazılarında bulunan bir virulans faktörüdür. Bu toksinin aktivitesi lipoprotein lipit A bileşeni ile ilgilidir. Bakterinin hücre duvarının parçalanmasıyla ortaya çıkan lipit A

molekölü makrofajların sitokin maddesini oluşturmasını sağlayarak ve salgılanmasını arttırarak etki göstermektedir. Endotoksin insanda lökopeni, ateş, dolaşım sisteminde ve organlarda şok ve ölüme sebebiyet vermektedir [19].

**Kapsül:** *E. coli*'nin kapsül yapısı polisakkarit zincirlerinden oluşmaktadır ve sıcaklığa duyarlıdır. *E. coli* kapsül yapısı; bakteri hücresinin yüzey moleküllerini gizli hale getirerek bakteri hücresi ile fagosit hücrelerinin birbirine temasını engellemektedir ve bakteriyi fagositozdan korumaktadır [34].

**Hemolizin:** *E. coli* suşları birçok farklı tip hemolizin üretebilmektedir. Bunların başlıcaları  $\alpha$ -hemolizin,  $\beta$ - hemolizin,  $\gamma$ -hemolizin ve enterohemolizindir. Yapılan birçok çalışma, *E. coli* suşlarındaki  $\alpha$ - hemolizin üretiminin üriner sistem enfeksiyonları ile ilişkili olduğunu göstermektedir.  $\alpha$ - hemolizin eritrositlerin lizisine neden olmakta ve açığa çıkan demir ise siderofor sistemleri aracılığı ile *E. coli* tarafından kullanılmaktadır [35].

**Sideroforlar:** Sideroforlar demir bağlama eğilimi gösteren bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Enterik bakteriler aerobaktin ve enterobaktin adı verilen iki tip siderofor içermektedirler [36]. Bu sideroforlar *E. coli*'lerde demir bağlama kapasitesi olan proteinlerdir. Demir, konağın demir bağlama proteinleri yerine bakteriyel sideroforlar tarafından bağlanırsa bakteri tarafından kullanılmaktadır. Sideroforlar aerobik metabolizmanın devamını sağlayarak çoğalmaya yardımcı olmaktadır [37]. Yapılan araştırmalar, üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* suşlarında sideroforların bulunduğunu göstermektedir [38].

**Kolisin:** Birçok Gram negatif bakteri bakteriyosin adı verilen peptit ya da protein yapıdaki antibakteriyel bileşikler üretmektedir. Bakteriyosinlerin üretimleri kromozomal ve plazmid kontrolünde gerçekleşmektedir. Kolisin, *E. coli*'nin salgıladığı ve virulans faktörü olan bir bakteriyosin çeşididir. [26].

**Biyofilm Tabakası:** Polisakkarit, protein, DNA ve sudan meydana gelen ekstraselüler matriks, mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilm hücrelerinin birbirlerine tutunmasını



sağlamaktadır. Yüzeğe tutunan bakteri hücreleri burada çoğalarak mikrokolonileri, mikrokoloniler ise büyüüp genişleyerek makrokolonileri oluşturmaktadır [39].

Özellikle tıpta kullanılan biyomateryallerin yüzeyine tutunarak biyofilm tabakası oluşturan dirençli mikroorganizmalar konak savunma mekanizmalarına karşı da direnç geliştirerek enfeksiyon oluşturmaktadırlar [40]. Üriner kataterlerin yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası da, kataterin vücutta kalma süresi arttıkça daha da artmaktadır [41].

Biyofilm oluşturan mikroorganizmaların virulansı planktonik formlarından daha fazladır. Yapılan çalışmalar biyofilm oluşturan mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı daha dirençli olduklarını ve tedavilerinin biyofilm oluşturmeyen eşdeğerlerine göre daha da zorlaştığını göstermektedir [42].

## **2.2. Biyofilm**

### **2.2.1. Biyofilmin Tanımı ve Tarihçesi**

Biyofilm; canlı veya cansız bir yüzey alanına yapışarak, yapısal bir bütünlük içerisinde topluluk halinde yaşayan ve birbirleriyle çeşitli sinyal yolları ile iletişim sağlayarak varlıklarını devam ettiren mikroorganizmaların oluşturduğu yapılardır. Mikroorganizmalar ekstraselüler polimerik maddeler (EPS) olarak da bilinen ve bir dizi polisakkarit, nükleik asit ve protein içeren bir matriks içerisinde gömülü olarak bulunurlar. Fosil kayıtlarından edinilen bilgiler prokaryotların üç milyar yıldan daha uzun bir süreden beri biyofilmler içerisinde yaşadıklarını ortaya çıkarmışlardır [43].

Biyofilm kavramı ilk olarak 17. Yüzyılda Van Leeuwenhoek'un kendi dişlerindeki plaklarda, mikroskopla saptanabilen varlıkları göstermesi ile ortaya çıkmıştır. Uzun yıllar konu ile ilgili bir çalışma yapılmamasına karşın, biyofilmlerin tanımlanması son 40 yılda gelişmiştir [44].

1973 yılında Caracklis, endüstriyel su sistemlerindeki mikrobiyal toplulukları incelemiş ve mikroorganizmaların sadece yüzeğe kuvvetle tutunmadıklarını, aynı zamanda klor gibi dezenfektanlara karşı çok dirençli olduklarını da göstermiştir [45].

Marshall 1976 yılında çok ince ekstraselüler polimer fibrillerin bakteri yüzeyine sabitlendiğini bildirmiştir [46].

Biyofilmler ve özellikleri ile ilgili ilk bulgular 1978 ve sonrasında ortaya çıkarılmıştır. Bu bulgulara göre; yeterli besine sahip ekosistemlerde bakterilerin büyük bir kısmı biyofilm

tabakasını oluşturan matrikste büyürler ve bu sesil bakteriler planktonik eşdeğerlerinden farklılık göstermektedirler [44].

Costerton ve arkadaşları [44] su sistemlerindeki bakteri topluluklarının doğal halde polisakkarit içinde bulduklarını; yapışmış bakteri topluluklarının ise glikokaliks matriks içinde bulduklarını ve bu matriks yapısının adhezyona aracılık ettiğini gözlemlemişlerdir.

Donlan ve Costerton [47] biyofilm tanımını biraz daha geliştirmiş ve biyofilmleri aşağıdaki özelliklere sahip mikrobiyal hücrelerden oluşan hareketsiz bir topluluk olarak tanımlamışlardır:

1. Hücreler geri dönüşümsüz olarak bir substrata, ara yüzeye veya birbirlerine tutunmuşlardır.
2. Hücreler kendi ürettikleri ekstraselüler polimerik maddelerden oluşan bir matriks içerisinde gömülüdür.
3. Büyüme hızları ve gen transkripsiyonları açısından serbest dolaşan türdeşleri ile aralarında farklılıklar vardır [47].

Günümüzde derin yer altı suları ve okyanusların derinlikleri hariç biyofilmin tüm doğal ekosistemlerde oluşabildiği kabul edilmektedir.

### **2.2.2 Biyofilmin Yapısı**

Biyofilm kütesinin %73 ila %97'lik kısmını su oluşturmaktadır. Bununla birlikte matriks içinde %1-2 globuler glikoproteinler ve diğer proteinler, %1-2 nükleik asit, lipit ve fosfolipitler gibi farklı bileşenler de bulunmaktadır. Belirtilen bu oranlar mikroorganizmaların çeşidine, fizyolojik özelliklerine, gelişme ortamının pH ve sıcaklık gibi fiziksel özelliklerine göre değişkenlik gösterebilmektedir [48].

Ekstraselüler matriks, biyofilm hücrelerinin yüzeye kuvvetli bir şekilde tutunmasını sağlamaktadır. Yüzeye tutunan mikroorganizmalar çoğalarak mikrokolonileri ve mikrokoloniler de büyüyüp genişleyerek makrokolonileri oluşturmaktadır. Makrokolonilerin bir araya gelmesiyle biyofilm tabakası oluşturulmuş olmaktadır [39], [49].

Biyofilm tabakası içerisinde bulunan ekstraselüler polimerik materyaller, bakterilerin koloniler olarak büyümelerine yardım etmekte ve çeşitli yüzeylere tutunmalarını

sağlamaktadır. Biyofilm matriksinin yapı materyali olan bu polimerlerin emülsiyon, absorpsiyon, jel oluşumu, flokülasyon ve koruma gibi pek çok görevleri bulunmaktadır [6].

EPS'ler glikozit bağları ile birbirine bağlı olan homopolisakkarit ve heteropolisakkarit yapıdaki şeker ünitelerinden oluşmaktadır [50]. Yapılan çalışmalarda EPS'nin jel veya viskoelastik fazlarda bulunabileceği ve bu fazlara geçişler sırasında protein, polisakkarit ve  $Ca^{+2}$  iyonlarının da oluşan yapıyı sağlamlaştırmaya katkı sağladığı bildirilmiştir [51].

EPS sentezi karbon, azot, fosfat ve potasyum gibi besinlerin ortamda bulunma oranına bağlıdır. Örneğin karbon fazlalığı ve diğer besinlerdeki sınırlılık EPS sentezini arttırabilmektedir. Bunun yanında yavaş bakteriyel büyüme de EPS sentezini arttıran etkenlerdendir [52].

### **2.2.3 Biyofilm Oluşumunu Etkileyen İç ve Dış Faktörler**

Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler; iç ve dış faktörler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. İç faktörler; su aktivitesi, antimikrobiyal madde içeriği, pH değeri, besin maddelerinden faydalanma durumu, oksijen ihtiyacı ve elektriksel değişkenlik gibi faktörlerdir. Dış faktörler ise yüzey materyali, yüzey alanı, yüzey düzgünlüğü, sıvının akış hızı ve sınırlı besin maddesidir [53].

### **2.3. Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturma Nedenleri**

Mikroorganizmaların biyofilm oluşturan formları, serbest halde bulunan eşdeğerlerine kıyasla pH değişikliklerine, antibiyotiklere, oksijen radikallerine, dezenfektanlara, fagositoza ve besin yokluğuna karşı daha dirençli halde bulunmaktadırlar. Yapılan çalışmalarda biyofilm tabakasının mikroorganizmaları kan akımı ve tükürüğün yıkama gücü gibi birtakım fiziksel güçlere karşı koruma özelliğinin olduğu gösterilmektedir [7].

Olgun biyofilm tabakası içerisinde bulunan ekzopolisakkarit yapısı iyon değiştiricisi gibi davranarak mikroorganizma açısından zararlı maddelerin biyofilm içerisine girmesini engellemekte, ayrıca UV ışınları ve kuruma gibi çevresel streslerin mikroorganizmaya karşı olumsuz etkilerinden koruyarak savunmada önemli rol oynamaktadır [54].

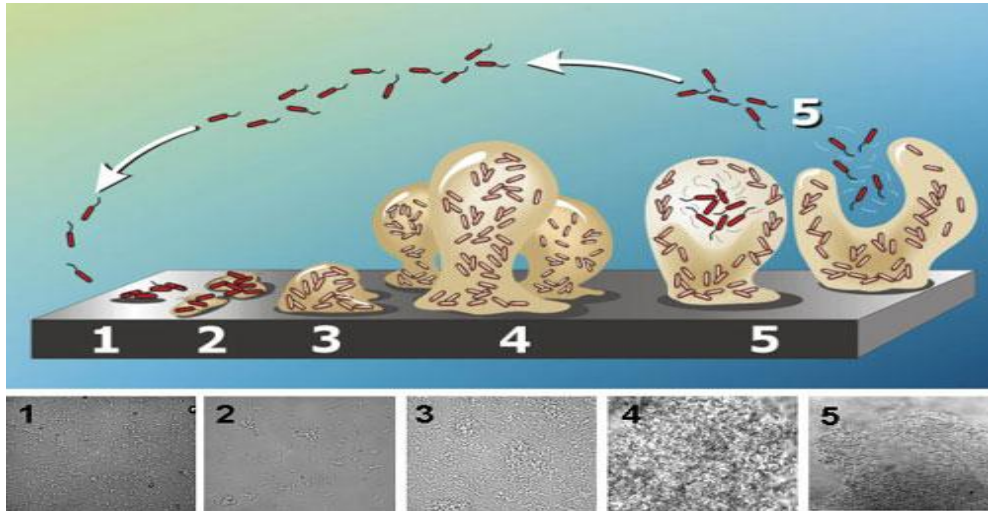
Belirli bir yüzey alana tutunmuş olan farklı türdeki mikroorganizmaların aynı ortama adapte olmalarıyla birlikte kendi aralarındaki yapışma, çoğalma ve biyofilm tabakası oluşturma süreci başlamaktadır. Farklı türden mikroorganizmaların bir araya gelerek bu

şekilde biyofilm tabakası oluşturmasıyla konjugasyon gerçekleşmekte ve mikroorganizmalar yeni genetik özellikler kazanmaktadır. Bu durum özellikle antibiyotiklere karşı çoklu direnç gelişiminde önemlidir [55].

Yapılan araştırmalarda ortamda bulunan karbon kaynaklarının da biyofilm oluşumunda son derece önemli olduğu ortaya konulmaktadır. Örneğin *Escherichia coli*'de ortamda bulunan glukozun bakteri tarafından kullanılabilir olmasının biyofilm oluşumunu belirgin bir şekilde arttırdığı gözlenmektedir. Ortamdaki besin miktarı dışında pH, sıcaklık, osmolarite, demir ve oksijen gibi diğer çevresel faktörler de biyofilm oluşumu üzerinde önemli rol oynamaktadır [56].

#### 2.4. Biyofilm Oluşum Aşamaları

Biyofilm oluşumu mikroorganizmaların belirli bir yüzey alanına tutunması ile başlayan dinamik bir süreçtir. Bu tutunma sonucunda bir seri genetik işlem başlatılmaktadır. Bu bağlamda yüzeye tutunan mikroorganizma sayısı arttıkça oluşturulan sinyal molekülünün birim alandaki konsantrasyonu artmakta ve biyofilm oluşum süreci başlamaktadır [57]. Şekil 2.4.'te biyofilmlerin oluşum aşamaları gösterilmektedir [58].



Şekil 2.4. Biyofilmlerin oluşum aşamaları [58].

Yüzey alana tutunma ve yapışma iki basamakta gerçekleşmektedir. İlk basamak geri dönüşümlü tutunmadır. Geri dönüşümlü tutunmada mikroorganizma ile yüzey arasında elektrostatik, hidrodinamik ve hidrofobik etkileşimler ile Van Der Waals bağları oluşmaktadır. Bunlar zayıf etkileşimlerdir. Bu tutunmada mikroorganizma yüzeyin

yakınında olup yüzey ile tamamen temas halinde bulunmamaktadır [59], [60], [61], [62], [63].

İkinci basamak ise geri dönüşümsüz tutunmadır. Geri dönüşümsüz tutunmada mikroorganizma ile yüzey arasında iyonik ve kovalent bağlar, hidrojen bağları, dipol-dipol etkileşimi ve hidrofobik etkileşimler gibi primer bağlanmaya göre daha kuvvetli bağlar oluşmaktadır. Mikroorganizmalar pili ve flagella gibi ligandlarla ve EPS oluşturarak yüzeylere geri dönüşümsüz bağlanmayı gerçekleştirmektedirler [60].

Hareketli ve hareketsiz bakterilerde yüzeye tutunma farklı şekillerde olmaktadır. Hareketli bakterilerde flagella, fimbria ve ekzopolisakkaritler tutunmada önemli rol oynamaktadır.

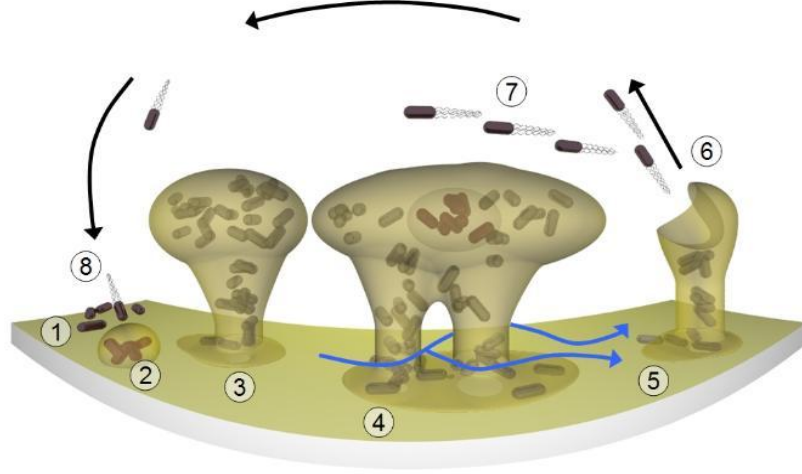
Yapılan araştırmalarda flagellanın bağlanmayı başlatmada gerekli olduğu ve hız kazandırdığı gösterilmiştir. Örneğin, flagellasız veya flagellası paralize olmuş mutant *Escherichia coli* K 12 suşunun polivinilklorid (PVC) yüzeylere büyük oranda bağlanma gerçekleştirmediği saptanmıştır [64].

Mikroorganizmalar yüzeye yapışmak için fimbria ve pililerini kullanmaktadır. Özellikle Gram negatif bakterilerde pili sentezi için gerekli olan gen ekspresyonu biyofilm tabakası oluşumu ile ilişkilidir. *Escherichia coli* K 12 tip 1 pili'nin biyofilm tabakasına bağlanmada önemli pililer oldukları yapılan araştırmalarla ortaya çıkarılmıştır [64], [65].

Hareketsiz bakterilerde yüzeye tutunma ise büyük oranda EPS, mikroorganizmanın hücre yüzey proteini ve protein benzeri yüzey antijenleri ile yapılmaktadır [66].

Geri dönüşümsüz tutunma basamağının sonunda hücrelerin yüzeyden uzaklaştırılması için fırçalama ve kazıma gibi güçlü işlemlerin yapılması gerekmektedir [54], [67].

Daha sonraki basamak ise yüzeye tutunan mikroorganizmaların gelişip çoğalarak mikrokolonileri oluşturmasıdır. EPS sentezi ile birlikte giderek daha da sağlam bir yapı kazanan mikrokoloniler büyüyerek kompleks, mantar görünümlü yapılara veya kulelere dönüşürler. Farklı büyüklüklerdeki kuleler oluşturan mikrokolonilerin aralarında besinlerin ve metabolik artık ürünlerin uzaklaştırılması için ilkel bir dolaşım sistemi görevi gören su kanalları bulunmaktadır. Konfokal lazer mikroskopisi ile yapılan araştırmalar mikroorganizmaların, kompleks ekzopolisakkarit matriks ile çevrili mikrokoloniler içerisinde birbirleriyle haberleşerek yaşadıklarını ortaya koymaktadır [57]. Şekil 2.5.'te biyofilm tabakasının oluşum mekanizması ve biyofilm oluşumunda orta çıkan kanallar arasındaki iletişim görülmektedir [68].



Şekil 2.5. Biyofilm oluşum mekanizması ve kanallar arası iletişim [68].

Biyofilm oluşum aşamasında son basamak ise kopma ve ayrılma evresidir. Bu süreçte tek bir mikroorganizma veya mikroorganizma kümeleri olgun biyofilm tabakasından koparak ortama yayılmaktadır. Bu kopma işlemi dışarıdan gelen fiziksel kuvvetlerin etkisiyle olabileceği gibi biyofilm oluşum basamağının bir parçası olarak kendiliğinden de gerçekleşebilmektedir [43].

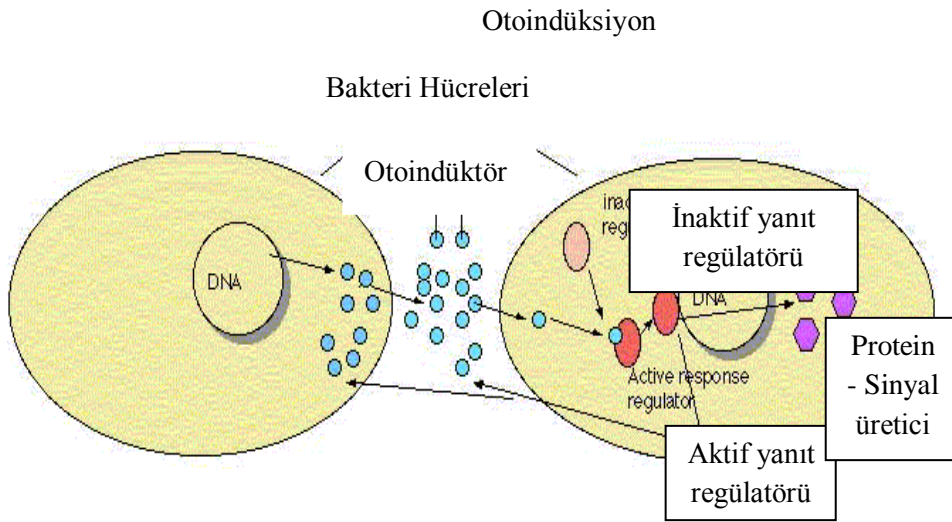
## 2.5. Biyofilm Yapısındaki Hücreler Arası İletişim (Quorum Sensing=Çoğunluğu Algılama)

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların sadece bir araya gelerek belirli bir yüzeye tutunduktan sonra oraya yapışarak ortamda bulunan diğer türlerle birlikte yaşamaya devam ettikleri şeklinde gerçekleşen rastgele bir süreç değildir. Birçok mikroorganizma küçük, yayılabilir sinyal moleküllerini kullanarak aktivitelerini koordine ederler. Biyofilm oluşumunda önemli rol oynayan çoğunluğu algılama mekanizması ile mikroorganizmalar ürettikleri sinyal moleküllerinin yoğunluğuna bağlı olarak çevrelerinde bulunan diğer mikroorganizmaların miktarını algılayabilmektedir [69].

Quorum sensing işlemi ilk olarak Hastings ve Nealson'un *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi* mikroorganizmalarının belirli bir yoğunluğa ulaştıktan sonra bir ışık yaydıklarını fark etmesi ile gündeme gelmiştir. Yapılan çalışmalara göre biyoluminesans adı verilen ışımaya; kültür konsantrasyonu azaltıldığında kaybolmakta, kültür konsantrasyonu arttırıldığında tekrar belirginleşmektedir. Bu durumun ise sinyal molekülleri aracılığı ile gerçekleştiği belirtilmektedir [70]. Bu çalışmanın ardından Eberhard ve arkadaşları [71], Quorum

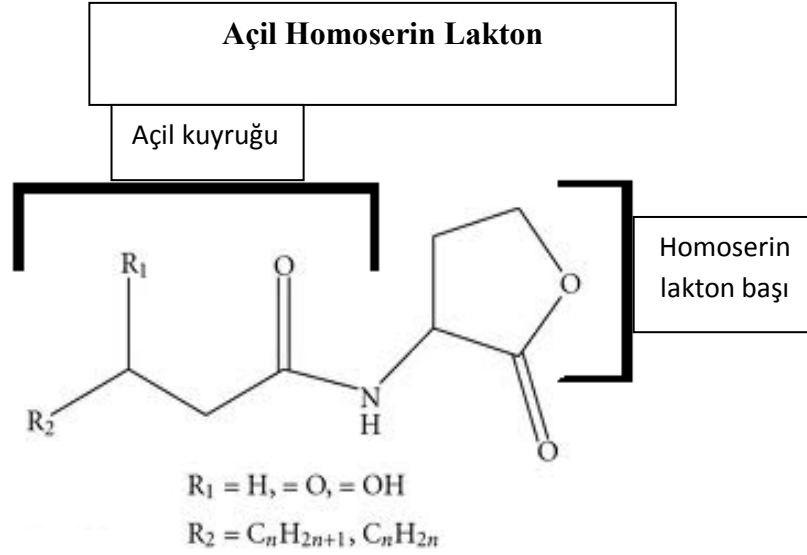
sensing sinyal molekülü olarak bilinen N-açil homoserin lakton'un (AHL) biyoluminesans için gerekli oto-indükleyici faktör olduğunu ortaya koymuşlardır.

Çeşitli mikroorganizma türlerinde sekonder metabolit üretimi, yüzme ve kümelenme hareketi, konjugal plazmit transferi, antibiyotik direnci, biyofilm gelişimi, spor oluşumu, virulans faktörleri gibi fizyolojik süreçler Quorum sensing aracılığı ile düzenlenmektedir [72]. Bu hücreler arası iletişimi sağlayan mekanizma küçük, kendiliğinden sinyal üretebilen otoindükleyici (Autoinducer (AI)) adı verilen moleküllerden oluşmaktadır. Quorum sensing moleküllerinin otoindükleyici olarak da ifade edilmelerinin nedeni, üretildikleri hücrenin metabolizması üzerinde düzenleyici (regülatör) etki göstermeleridir [73], [74]. Otoindükleyicilerin kullanımı ile mikroorganizmalar hareketlerini yüzeyde bulunan mikroorganizmaların yoğunluğuna göre düzenleyebilmektedir [50]. Şekil 2.6.'da bakteri hücreleri arasındaki otoindüksiyon şematik olarak gösterilmektedir [75].



**Şekil 2.6.** Bakteri hücreleri arasındaki otoindüksiyon [75]

Gram negatif bakterilerde açil homoserin laktonlar (AHLs) Quorum sensing'e etki eden ana moleküldür [76]. Açil homoserin laktonlar Lux 1 protein ailesi tarafından üretilen küçük moleküller olup, bir lakton halkası ile açil yan zincirinden oluşmaktadırlar [77]. Şekil 2.7.'de *E. coli* gibi Gram negatif bakterilerde bulunan açil homoserin laktonların kimyasal dizilimi gösterilmektedir [78].



**Şekil 2.7.** Gram negatif bakterilerde açıl homoserin laktonlar [78]

Gram pozitif bakterilerde, Gram negatif bakterilerin tam tersine AHL aracılığı ile Quorum sensing kullanımı gösterilmemiştir [79]. Gram pozitif bakteriler Quorum sensing için peptit sinyal moleküllerini kullanmaktadırlar [80]. Bu oligopeptit yapıları, oto indükleyici peptitler (AIPs) olarak bilinmekte ve tipik olarak 5-17 aminoasit zincirinden oluşmaktadırlar [7]. Bunun yanı sıra AHL sinyalinden farklı olarak bakteri hücre membranı AIPs'e karşı geçirgen değildir.

Ayrıca Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin otoindükleyici 2 (Autoinducer 2 (AI-2)) adında üçüncü bir sistemi de kullandıkları gösterilmiştir [81].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda *E. coli* ve *Salmonella enterica*'nın hücreden hücreye sinyalinin AI-2 otoindükleyicisi tarafından gerçekleştirildiği açıklanmıştır. Bu sinyal moleküllerinin bakterinin logaritmik gelişim süresince üretildiği ve bakteri membranına geçebildiği ifade edilmektedir [82].

Davies ve arkadaşları [83], *Pseudomonas aeruginosa*'ya ait biyofilm oluşumu ile ilgili genlerden *las-R*, *las-I* ve *rhl-R*, *rhlI* uyarım sistemlerini göstermişlerdir. Bu genlerden herhangi birinin uyarımı sonrasında yeterli sayıda biyofilm oluşturma yeteneğindeki bakterinin önce mikrokoloniler oluşturduğu ve daha sonra ince bir biyofilm tabakası meydana getirdikleri bildirilmiştir. Aynı çalışmada uyarılmış biyofilmin sürfektanlar ile tutunma yüzeyinden kolayca sökülebildiği, bunun ardından mikrokolonilerin bulunduğu



ortama homoserin lakton eklendiğinde ise normal boyutta biyofilm tabakası oluştuğu gözlemlenmiştir.

Bir başka deneysel çalışma da ise *Staphylococcus aureus*'un Quorum sensing mekanizması bloke edildiği takdirde biyofilm oluşumunda artış gözlemlenmektedir. Bu bağlamda ortamda düşük miktarda bulunan *Staphylococcus aureus* suşlarının biyofilm oluşturma potansiyeli artmakta iken, ortamda yüksek miktarda bulunan *Staphylococcus aureus* suşları biyofilm oluşumunu bırakarak konuk hücreyi işgal etmektedir.

## **2.6. Biyofilm Bakterisi ve Planktonik Bakteri Karşılaştırılması**

Biyofilm oluşturan hücreler planktonik hücrelerle kıyaslandığında antibakteriyel maddelere, klorin, monokloramin, peroksijenler ve glutraldehit gibi biyositlere ve ısıya karşı daha dayanıklı oldukları gözlenmektedir [84]. Biyofilm üreten bakterilerin planktonik bakterilere göre antibakteriyel maddelere karşı dayanıklılıklarının yüzlerce kat daha fazla olduğu ileri sürülmektedir [85].

Biyofilm içinde yaşayan bakteriler planktonik bakterilerden farklı gen ekspresyonuna sahiptir. Farklı gen ekspresyonları ise fenotipik olarak farklı özellikte bakterilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [43].

Bu bağlamda, biyofilm üzerine yapılan araştırmalar gen ekspresyonuna dayanan yeni metotlar sayesinde her geçen gün hız kazanmaktadır.

## **2.7. Biyofilmler ile İlgili Enfeksiyonlar**

Günümüzde hızla ilerlemekte olan teknolojik gelişmeler tıp ve cerrahi alanında da etkisini göstermiş ve ilgili bilim dallarının geliştirilmesinde etkin rol oynamıştır. Bu bağlamda modern tıbbın günümüzde vazgeçilmez araçlarından biri de kalıcı tıbbi cihazlar ve araçlar olmuştur. Kalıcı tıbbi cihaz ve araçlar morbidite ve mortaliteye olumsuz katkıları nedeniyle günümüzde en çok araştırılan araştırma alanlarından biri olmuştur. İnsan vücuduna yabancı olan bu cisimler insan vücudunda oluşan en önemli enfeksiyon etkenlerinden biri haline dönüşmüştür [59].

Mikroorganizmaların tıbbi materyale primer olarak tutunması sonucunda biyofilm tabakası oluşumunun ilk evresi başlamaktadır. Daha sonra yüzeye tutunan bu mikroorganizmalar EPS sentezleyerek birbirlerine ve ortama daha sıkı bağlanmakta ve mikroorganizmalar

birbirlerine yapışmaktadır. Bunun sonucunda da çok katlı mikroorganizma kümeleri oluşmaktadır [86], [87].

Mikroorganizmaların yabancı yüzeye tutunmaları ve bunun sonucu olarak biyofilm oluşturmaları; yüzeye tutunma süresi, yüzeyin fiziksel ve kimyasal yapısı, tıbbi materyalin içinde bulunduğu hücre sayısı ve hücre tipi gibi çeşitli fiziksel faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir [41].

Biyofilm enfeksiyonlarına sebebiyet veren tıbbi materyallere örnek olarak ortopedik protezler, kataterler, sondalar, kontakt lensler, rahim içi (intrauterin) araçlar, oftalmik implantlar, vasküler stentler ve mekanik kalp kapakçıkları verilebilir [44].

## **2.8. Yararlı Biyofilmler**

Mikroorganizmaların biyofilm tabakası oluşturmaları, özellikle tıbbi alanda insan sağlığını tehdit etmesi açısından olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Bunun aksine bazı durumlarda ise mikroorganizmaların biyofilm oluşturmaları insan sağlığı açısından olumlu sonuçlar vermektedir. Bu duruma verilecek ilk örnek biyofilm tabakasının etkisi ile yer altında bulunan su kaynaklarının kontaminasyonunun önlenmesi olabilmektedir. Yer altı suyu kontaminasyonu riski fazla olan bölgelerde yer altı su kaynaklarına ucuz karbon kaynağı pompalayarak oluşturulan biyofilm tabakası bariyer görevi üstlenerek çevre kirleticileri ve su kaynağı arasındaki geçişleri engellemektedir [88].

Yararlı biyofilmlere verilecek bir diğer örnek ise maden yataklarından çevreye yayılan sülfür ve benzeri yan ürünlerin detoksifikasyonu olarak gösterilebilmektedir. Biyofilm tabakası içerisinde bulunan sülfür tüketici bakteriler ağır metaller gibi çevre kirleticilerinin toprağa yayılmasına izin vermeden çevre kirleticilerini besin olarak kullanmaktadırlar. Böylece ortamda bulunan istenmeyen miktardaki inorganik madde yükü de azaltılmaktadır [88].

## **2.9. Çalışmada Kullanılan Antibiyotikler**

Antibiyotikler, herhangi bir mikroorganizma tarafından başka bir mikroorganizmayı öldürmek (bakterisidal etki) veya çoğalmasını durdurmak (bakteriyostatik etki) amacı ile üretilen biyolojik veya sentetik kaynaklı maddelerdir [89].

Antibiyotiklerin keşfedilmesi ile birlikte enfeksiyonların tedavi edilmesinde ciddi başarılar sağlanmıştır. Bunun yanında bilinçsiz ve yaygın antibiyotik kullanımı antibiyotik dirençliliğini ortaya çıkarmıştır. Antimikrobiyal ajana karşı direnç kazanan mikroorganizma, o antimikrobiyalden etkilenmemektedir. Bu da tedavide başarısızlıklara neden olmaktadır. Direnç gelişiminin önüne geçmek amacı ile hastalara antibiyogram testleri uygulanmalı, doğru ve etkili olan antibiyotik veya antibiyotik kombinasyonları belirlenerek hastaların tedavi süreci etkin bir şekilde tamamlanmalıdır [90].

*E. coli*'nin de dahil olduğu *Enterobacteriaceae* familyasına etki eden antimikrobiyallerin tedavide kullanımını belirlemek amacıyla CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından dört gruptan oluşan bir antimikrobiyal sınıflandırma yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre tedavide ilk seçenek olarak Grup A antimikrobiyalleri kullanılmalıdır. Eğer mikroorganizmalarda Grup A antimikrobiyelerine karşı direnç gelişimi gözleniyor ise Grup B antimikrobiyalleri ikinci seçenek olarak kullanılabilir. Mikroorganizmaların Grup B antimikrobiyelerine de direnç gelişimi gözleniyor ise üçüncü seçenek olan Grup C antimikrobiyalleri kullanılmalıdır. Üriner sistem enfeksiyonlarında ise yalnızca Grup U antimikrobiyalleri kullanılmalıdır [91].

**Çizelge 2.1.** *Enterobacteriaceae* familyasına ait mikroorganizmaların tedavisinde kullanılan antimikrobiyaller [91]

<b>Grup A</b>	<b>Grup B</b>	<b>Grup C</b>	<b>Grup U</b>
Ampisilin	Amikasin	Aztreonam Seftazidim	Lomefloksasin veya Ofloksasin Norfloksasin
Sefazolin Sefalotin	Amoksisilin/Klavulanik asit Ampisilin/Sulbaktam Piperasilin/Tazobaktam Tikarsilin/Klavulanik asit	Kloramfenikol	Nitrofurantoin
Gentamisin Tobramisin	Sefuroksim Sefepim	Tetrasiklin	Sulfisoksazol Trimetoprim

**Çizelge 2.1.** *Enterobacteriaceae* familyasına ait mikroorganizmaların tedavisinde kullanılan antimikrobiyaller [91] (devam)

<b>Grup A</b>	<b>Grup B</b>	<b>Grup C</b>	<b>Grup U</b>
	Sefoksitin		
	Sefotaksim		
	veya		
	Seftriakson		
	Siprofloksasin		
	Levofloksasin		
	Ertapenem		
	İmipenem		
	Meropenem		
	Piperasilin		
	Trimetoprim/Sulfametoksazol		

Antibiyotiklerin etki mekanizmaları çok çeşitlidir. Bunlardan başlıcaları;

- 1) Bakteri hücre duvarı sentezini engelleyenler
- 2) Mikroorganizmanın hücre zarını direkt olarak etkileyenler
- 3) Protein sentezini inhibe edenler
- 4) Mikroorganizma için zorunlu olan metabolik basamakları spesifik olarak bloke edenler (metabolik antagonizm)
- 5) Çeşitli fonksiyonlara birden fazla etki (karışık etki) yapanlar
- 6) Nükleik asit metabolizmasını etkileyenler [92].

Bizim çalışmamızda Amikasin, Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam, Sefoksitin, Siprofloksasin, Ertapenem, Gentamisin, İmipenem, Meropenem,

Piperasilin-Tazobaktam, Trimetropim-Sulfometoksazol antibiyotikleri kullanılmıştır. Kullanılan antibiyotiklerin genel özellikleri şunlardır:

**Amikasin:** Protein sentezini inhibe ederek etki gösteren aminoglikozid grubu antibiyotiklerdir. Proteinin 30S ribozomal alt ünitesine bağlanarak bakterisidal etki gösterirler [93].

**Ampisilin-Sulbaktam:** Hücre duvarı sentezi inhibe eden beta laktam antibiyotik grubundan olan penisilin türevi ile beta-laktamaz inhibitörü olan sulbaktam kombinasyonudur [94].

**Sefazolin:** Hücre duvarı sentezini inhibe eden beta-laktam antibiyotiklerden birinci kuşak sefalosporin grubu antibiyotiktir. Bakterisidal etki gösterirler [95].

**Sefepim:** Hücre duvarı sentezini inhibe eden beta-laktam antibiyotiklerden dördüncü kuşak sefalosporin grubu antibiyotiktir. Dördüncü kuşak sefalosporinler Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere geniş spektrumlu etki gösterirler [96].

**Sefoperazon-Sulbaktam:** Hücre duvarı sentezini inhibe eden beta-laktam antibiyotiklerden üçüncü kuşak sefalosporin grubu antibiyotik ile beta-laktamaz inhibitörü olan sulbaktam kombinasyonudur. Bakterisidal etki gösterirler [97].

**Sefoksitin:** Hücre duvarı sentezini inhibe eden beta- laktam antibiyotiklerden ikinci kuşak sefalosporin grubu antibiyotiktir [98].

**Siprofloksasin:** DNA-giraz enzim inhibitörü olan 2. kuşak florokinolon grubu antibiyotiklerdir. Bakteri hücrelerindeki DNA sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirler [99].

**Ertapenem:** Hücre duvarı sentezini inhibe eden beta-laktam antibiyotiklerin karbapenem grubundandır. Bakterisidal etki gösterirler [100].

**Gentamisin:** Protein sentezini inhibe ederek etki gösteren aminoglikozid grubu antibiyotiklerdir. Proteinin 30S ribozomal alt ünitesine bağlanarak bakterisidal etki gösterirler [93].

**İmipenem:** Hücre duvarı sentezini inhibe eden beta-laktam antibiyotiklerin karbapenem grubundandır. İmipenem, Gram pozitif koklara karşı daha etkilidir [101].

**Meropenem:** Hücre duvarı sentezini inhibe eden beta-laktam antibiyotiklerin karbapenem grubundandır. Meropenem Gram negatif basillere karşı daha etkilidir [101].

**Piperasilin-Tazobaktam:** Hücre duvarı sentezini inhibe eden beta-laktam antibiyotiklerden yarı sentetik penisilin grubundan olan piperasilin ile beta laktamaz inhibitörü olan tazobaktam kombinasyonudur. En geniş spektrumlu beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu, piperasilin-tazobaktamdır [102].

**Trimetropim-Sulfometoksazol:** Nükleik asit sentezini inhibe eden antibiyotik grubundandırlar. İki folat antagonisti antibiyotiğin kombinasyonudur. Bakteriyostatik etkili iki antimikrobiyal ajanın birlikte kullanımını ile güçlü antimikrobiyal etki sağlanmış olur [103], [100].

### 3. YÖNTEM VE GEREÇLER

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Bakteriler

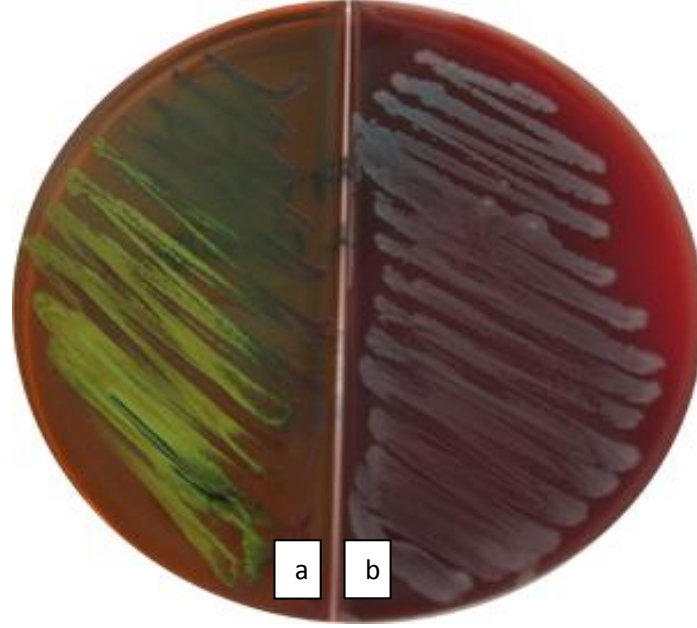
Ağustos 2012 - Ocak 2013 tarihleri arasında, Ankara'da bulunan bir hastanenin çeşitli servislerinde tedavi gören hastalara ait klinik materyallerden (idrara, abses, yara, balgam, trakeal aspirat) izole edilen *E. coli* suşları toplandı. Bu suşların Luria Bertani Agar'a ekimleri gerçekleştirildi ve 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı, ardından +4°C'de buzdolabında muhafaza edildi. Bu şekilde muhafaza edilen suşların pasajları her ay yenilendi. Suşları uzun müddet muhafaza etmek amacıyla %10 gliserollü Luria Bertani Broth besiyerine ekimleri gerçekleştirildi ve ardından -20°C'de saklandı. Suşlar çalışmaya alınmadan önce Luria Bertani Agar'a tek koloni pasajı yapılarak bir gece etüvde bekletildi ve taze kültürlerden elde edilen koloniler çalışmaya alındı.

#### 3.2. *Escherichia coli* Suşlarının Tanımlanması

Çeşitli sağlık servislerinden toplanan klinik materyallerden izole edilen *E. coli* suşları, EMB Agar ve Endo Agar besiyerlerinde makroskopik olarak ve Gram boyama yöntemi ile de mikroskopik olarak incelendi. Daha sonra bu suşlara İndol Testi, Metil Red Testi, Sitrat Testi, Triple Sugar Iron-Üç Şekerli Demir (TSI) Testi, Üre Hidrolizi Testi gibi çeşitli biyokimyasal testler uygulanarak, fenotipik yöntemlerle tanımlandı.

##### 3.2.1. *Escherichia coli* Suşlarının Koloni Morfolojisinin Araştırılması

*E. coli* suşları katı besiyerlerinde 24 saatte ortası kalkık, gri-beyaz renkli, 2-3 mm çapında pigmentsiz, düzgün (S tipi) koloniler oluşturmaktadır [34]. Çalışmamızda *E. coli* Eosin Metilen Blue Agar (EMB) ve Endo Agar'a inoküle edildi ve 24 saat boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Şekil 3.1.'de görüldüğü gibi *E. coli* Eosin Metilen Blue Agar'da (EMB) parlak, metalik röfle veren yeşil koloniler oluştururken (a), Kanlı Agar'da hemoliz oluşturabilmektedir (b) [34], [104].



**Şekil 3.1.** *E. coli*'nin Eosin Metilen Blue Agar (a) ve Koyun Kanlı Agar (b) 'daki koloni morfolojisi [104].

### 3.2.2. Endo Agar Besiyerinde Laktoz Fermentasyonunun Saptanması

Endo Agar besiyeri, *E. coli* tanımlanmasında kullanılan hem seçici hem de ayırt edici bir besiyeridir. Bu besiyerinin içeriğinde sodyum sülfid ve bazik fuksin bir arada bulunmaktadır. Bazik fuksinin koyu pembe rengi sodyum sülfid tarafından baskılanmaktadır. Laktoz fermentasyonu yapan bakterilerde  $\beta$ -galaktosidaz,  $\beta$ -galaktozid permeaz ve transasetilaz enzimleri bulunmaktadır. Bakteriler bu enzimleri sayesinde laktozu hidrolize ederek asetaldehit oluşturmaktadırlar. Ortaya çıkan asetaldehit, besiyerindeki sodyum sülfid ile bir araya gelerek, bazik fuksinin sodyum sülfid tarafından baskılanan koyu pembe renginin açığa çıkmasına neden olmaktadır. Böylelikle Gram negatif ve laktoz fermentasyonu pozitif olan bakterilerin Endo Agar besiyerinde koyu pembe renkli koloniler oluşturdukları gözlemlenmektedir. Ayrıca *E. coli* suşları Endo Agar besiyerinde metalik röfle oluşturmaktadırlar [105], [106].

Çalışmamızda laktoz fermentasyonunun varlığının ortaya çıkarılması için *E. coli* suşları Endo Agar besiyerine ekildi. 37°C'de inkübasyon sonunda besiyerini koyu pembe renge dönüştürerek üreyen suşların Şekil 3.2.'de görüldüğü gibi laktoz fermentasyonu pozitif olarak değerlendirildi [107].

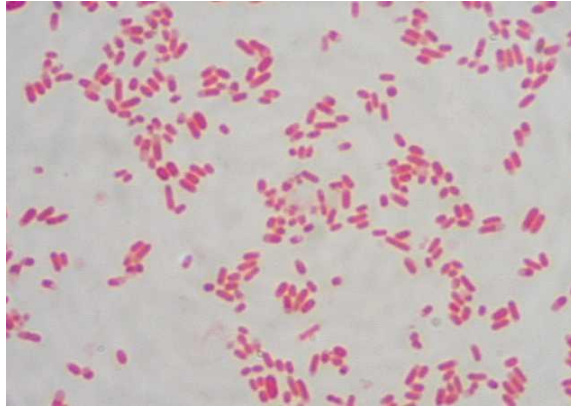




**Şekil 3.2.** *Escherichia coli*'nin Endo Agar besiyerindeki laktoz fermentasyonu sonuçları [107].

### **3.2.3. *Escherichia coli* Suşlarının Gram Boyama Metoduyla Mikroskopik Olarak İncelenmesi**

Suşlar, üretilen plaklardan öze ile lam üzerine alınarak 1 damla serum fizyolojik ile süspanse edildi. Daha sonra lamaların kurumaması beklendi ve üç kez alevden geçirilerek fiksasyonu sağlandı. Lamaların üzeri kristal viyole solüsyonu ile kaplanarak bir dakika beklendi ve su ile yıkandı. Lamalar lugol ile kaplanarak bir dakika beklendi ve su ile yıkandı. Renk giderme işlemi için alkol kullanıldı ve 30 saniye sonra su ile yıkandı. Lamalar son olarak bazik fuksin ile kaplandı ve 30 saniye beklendikten sonra su ile yıkandı. Preparatlar kuruduktan sonra üzerine bir damla immersiyon yağı damlatılarak mikroskopun 100X objektifinde incelendi [108]. Şekil 3.3.'de görüldüğü gibi Gram negatif çomak şeklinde pembe renkte boyananlar *E. coli* olarak tanımlandı [109].



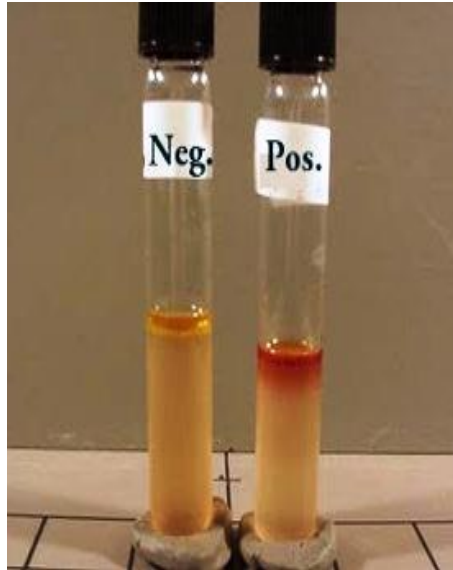
**Şekil 3.3.** *E. coli* türünün Gram boyamadan sonraki mikroskopik görüntüsü [109]

### 3.2.4. Diğer Biyokimyasal Testler

#### 3.2.4.1. İndol Testi

İndol testi, mikroorganizmaların triptofanaz enzimine sahip olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan bir testtir. Triptofanaz enzimine sahip olan mikroorganizmalar besiyerinde bulunan triptofanı parçalayarak; indol, pürivik asit ve amonyak benzeri ürünlerin açığa çıkmasını sağlamaktadır. İndol varlığının saptanması kovaks ayırıcı ile sağlanmaktadır. Kovaks ayırıcı paradimetil amino benzaldehit, amilalkol ve hidroklorik asitten oluşmaktadır. İndol, kovaks ayırıcında bulunan paradimetil amino benzaldehit ile birleşerek kültür yüzeyinde kırmızı halka oluşmasını sağlamaktadır. Kovaks ayırıcındaki diğer bileşenlerden amil alkol ise oluşan kırmızı halkanın, kültürün yüzeyinde toplanmasını sağlamaktadır [19], [105].

Çalışmamızda İndol testi için *E. coli* suşları triptofanlı besiyerine inoküle edildi ve 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında tüplere 0.5 ml kovaks ayırıcı ilave edildi. Tüpün üzerinde kırmızı renkli halka oluşması ile indol testi pozitif olarak değerlendirildi [19], [105], [110].



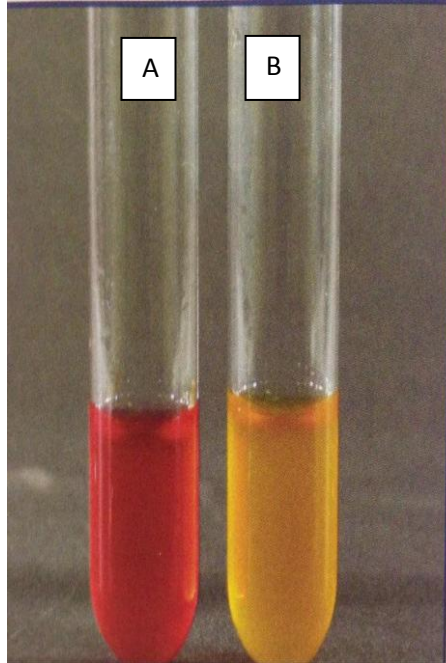
Şekil 3.4. İndol testi sonuçları [110]

#### 3.2.4.2. Metil Kırmızısı Testi

Metil kırmızısı testi, mikroorganizmaların karışık asit fermentasyonu yaparak organik asitler oluşturmalarını belirlemek amacıyla yapılan ve indikatör olarak metil kırmızısı kullanılan bir testtir. Metil kırmızısı indikatörü pH 6.2'de sarı, pH 4.4 ve altında ise kırmızı renk oluşturmaktadır. Karışık asit fermentasyonu yapan mikroorganizmalar organik asitler

üretrek ortam pH'sını 4.4'ün altına düşürmektedirler. pH indikatörü olarak kullanılan metil kırmızısı kùltüre eklendiğinde, belirgin bir kırmızı renk oluşumu gözlenmektedir [20], [105].

Çalışmamızda, Metil kırmızısı testi için *E. coli* suşları glukoz fosfatlı besiyerine inoküle edildi ve 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında tüplere birkaç damla metil kırmızısı indikatörü ilave edildi. Karışık asit fermentasyonu sonucu oluşan organik asitlerin pH'yı 4.4'ün altına düşürmesinden dolayı metil kırmızısı indikatörü ile tüpte belirgin kırmızı renk veren suşlar metil kırmızısı testi pozitif olarak değerlendirildi [20], [105], [111].



**Şekil 3.5.** Metil Kırmızısı testi sonuçları (A; pozitif , B; negatif) [111]

#### **3.2.4.3. Sitrata Testi**

Sitrata testi, karbon kaynağı olarak sitrati kullanan mikroorganizmaları belirlemek amacıyla yapılan ve indikatör olarak bromtimol mavisi kullanılan bir testtir. Sitrata testinde kullanılan bromtimol mavisi indikatörü besiyeri içeriğinde bulunmaktadır. Bromtimol mavisi indikatörü bazik pH'larda mavi renk oluşturmaktadır. Besiyeri ortamında bulunan sitrati kullanan mikroorganizmalar sitratin hidroliziyle bazik ürünler ortaya çıkarmaktadır. Oluşan bazik ürünler ortam pH'sını yükselterek besiyerinde pH indikatörü olarak bulunan bromtimol mavisinin renginin maviye dönmesine neden olmaktadır. Besiyerindeki tek

karbon kaynağı olan sitratı kullanamayan mikroorganizmalar besiyerinde herhangi bir değişim oluşturmamaktadırlar [105], [112].

Çalışmamızda, sitrat testi için *E. coli* suşları Simmons Sitrat Agar besiyerine inoküle edildi ve 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında *E. coli* suşları ortamda bulunan tek karbon kaynağı olan sitratı kullanmadığı için besiyerinin rengi değişmedi ve test sonucu negatif olarak değerlendirildi [105], [112], [113].



Şekil 3.6. Sitrat testi sonuçları (A; negatif, B; pozitif) [113]

#### 3.2.4.4. TSI (Üç Şekerli Demir) Testi

Triple Sugar Iron-Üç Şekerli Demir (TSI) testi, mikroorganizmaların glukoz, laktoz ve sukroz fermentasyonunu yapabilme ve hidrojen sülfür gazı oluşturabilme özelliklerinin saptanması için uygulanan bir testtir. Besiyerinde %10 sukroz, %10 laktoz %1 glukoz, ferrik amonyum sülfat, protein ve fenol kırmızısı bulunmaktadır. H<sub>2</sub>S indikatörü ferrik amonyum sülfattır ve siyah renk oluşumuna neden olmaktadır. H<sub>2</sub>S oluşumu gözlenen mikroorganizmalar ferrik amonyum sülfat indikatörü ile siyah renk oluşturmaktadırlar. Karbonhidrat fermentasyonu indikatörü ise fenol kırmızısıdır. TSI besiyerinde karbonhidrat fermentasyonu ile çeşitli asitler açığa çıkaran mikroorganizmalar fenol kırmızısı indikatörü ile ortamın kırmızıdan sarıya dönmesine neden olmaktadır [19], [114].

Çalışmamızda TSI testi için *E. coli* suşları TSI besiyerine inoküle edildi ve 37°C’de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında *E. coli* suşları laktozu kullanarak asit ve gaz oluşturan; H<sub>2</sub>S oluşturmeyen suşlar olarak değerlendirildi [19], [114], [115].



Şekil 3.7. *Escherichia coli*'nin TSI Besiyerinde üremesi [115]

#### 3.2.4.5. Üreaz Testi

Üreaz testi, mikroorganizmaların üreyi hidrolize eden üreaz enzimine sahip olup olmadığını belirlemek için yapılan bir testtir. Besiyeri bileşimde bulunan üre yüksek sıcaklıkta parçalandığından dolayı diğer bileşenlerden ayrı olarak sterilizasyon sonrası 50°C’ye kadar soğutulan besiyeri içeriğine milipor filtre yardımı ile eklenmektedir. Üre testinde ortamda pH indikatörü olarak fenol kırmızısı bulunmaktadır. Üreaz enzimine sahip olan mikroorganizmalar ortamda bulunan üreyi amonyak ve karbondioksit hidroliz etmektedirler. Amonyak ortamın pH’sını yükselterek alkali olmasını sağlamaktadır ve pH indikatörü olarak kullanılan fenol kırmızısının renginin menekşe-mor renge dönmesine neden olmaktadır [20], [114].

Çalışmamızda, üre testi için *E. coli* suşları üreli besiyerine inoküle edildi ve 37°C’de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında *E. coli* suşları besiyerinde bulunan üreyi kullanmadığından dolayı besiyerinin renginde değişim gözlenmedi ve test sonucu negatif olarak değerlendirildi [20], [114], [116].



**Şekil 3.8.** Üre hidrolizi testi sonuçları (A; negatif, B; pozitif) [116]

### 3.3. *Escherichia coli* Suşlarının Servislere Göre Dağılım Oranlarının Saptanması

Farklı servislerden toplanan *E. coli* suşlarının, toplandıkları servisler tespit edilerek, bu servisler göre dağılım oranları hesaplandı.

$$\text{X servisine göre dağılım oranı} = \frac{\text{X servisten izole edilen örnek sayısı}}{\text{Toplam örnek sayısı}} \times 100$$

### 3.4. *Escherichia coli* Suşlarının İzole Edildikleri Klinik Materyallere Göre Dağılım Oranlarının Saptanması

Toplanan *E. coli* suşlarının izole edildikleri klinik materyallere göre dağılım oranları hesaplandı.

$$\text{X klinik materyaline göre dağılım oranı} = \frac{\text{X klinik materyalinden izole edilen örnek sayısı}}{\text{Toplam örnek sayısı}} \times 100$$

### 3.5. *Escherichia coli* Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Yaşlarına Göre Dağılım Oranlarının Saptanması

Çalışmamızda, *E. coli* suşlarının, izole edildikleri hastalara ait yaş bilgileri; 0-15, 16-30, 31-45, 46-60, 61-75, 76-90, 91-105 arası yaş grupları olacak şekilde sınıflandırıldı. Suşların izole edildikleri hastaların, yaş gruplarına göre dağılım oranları hesaplandı.

$$\text{X yaş grubuna göre dağılım oranı} = \frac{\text{X yaş grubu hastadan izole edilen örnek sayısı}}{\text{Toplam örnek sayısı}} \times 100$$

### 3.6. *Escherichia coli* Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetine Göre Dağılım Oranlarının Saptanması

Çalışmamızda, *E. coli* suşlarının, izole edildikleri hastaların cinsiyetine göre dağılım oranları hesaplandı.

$$\text{X cinsiyetine göre dağılım oranı} = \frac{\text{X cinsiyetindeki hastadan izole edilen örnek sayısı}}{\text{Toplam örnek sayısı}} \times 100$$

### 3.7. *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması

Çalışmamız kapsamında hastaneden izole edilen *E. coli* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) standartlarına uygun olacak şekilde, disk difüzyon yöntemiyle araştırıldı ve sonuçlar belirlendi [91].

*E. coli* suşları Mueller Hinton Agar'a inoküle edilerek 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üretilen kolonilerden öze ile alınarak Mueller Hinton Broth besiyerine aktarıldı. Sıvı besiyerlerindeki kültürler 37°C'de inkübe edildi. Kültürün bulanıklığı 0.5 Mac Farland standardına ulaşıncaya kadar üzerine sıvı besiyeri eklenerek ayarlandı. Daha sonra sıvı besiyerinden alınan örnekler Mueller Hinton Agar besiyerine yayma ekim tekniği ile inoküle edildi. Yüzeyin kurumasından sonra petrilere antibiyotik diskleri yerleştirildi ve 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona

birakıldı. İnkübasyon sonrasında oluşan zon çapları milimetrik olarak ölçülerek CLSI standartlarına göre duyarlı, ılımlı ve dirençli antibiyotikler belirlendi.

Çalışmamızda *E. coli* suşlarının Amikasin, Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam, Sefoksitin, Siprofloksasin, Ertapenem, Gentamisin, İmipenem, Meropenem, Piperasilin-Tazobaktam, Trimetropim-Sulfametoksazol antibiyotiklerine olan duyarlılıkları araştırıldı.

**Çizelge 3.1.** Antibiyotik Zon Çapı Tablosu [91].

Antibiyotik Adı	Sembol	Disk İçeriği	Zon Çapı (mm)		
			D	I	H
Amikasin	AK	30 µg	≤14	15-16	≥17
Ampisilin-Sulbaktam	SAM	10/10 µg	≤11	12-14	≥15
Sefazolin	CZ	30 µg	≤14	15-17	≥18
Sefepim	FEP	30 µg	≤ 13	14-20	≥21
Sefoperazon-Sulbaktam	SCF	75 µg	≤15	16-20	≥21
Sefoksitin	FOX	30 µg	≤ 14	15-17	≥18
Siprofloksasin	CIP	5 µg	≤15	16-20	≥21
Ertapenem	ETP	10 µg	≤15	16-18	≥19
Gentamisin	CN	10 µg	≤12	13-14	≥15
İmipenem	IPM	10 µg	≤13	14-15	≥16
Meropenem	MEM	10 µg	≤13	14-15	≥16
Piperasilin-Tazobaktam	TZP	100/10 µg	≤17	18-20	≥ 21
Trimetropim-Sulfometoksazol	SXT	1.25/23.75 µg	≤10	11-15	≥16

### 3.7.1. *E. coli* Suşlarında Antibiyotik Direnç Oranlarının Hesaplanması

Çalışmamızda, *E. coli* suşlarının Amikasin, Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam, Sefoksitin, Siprofloksasin, Ertapenem, Gentamisin, İmipenem, Meropenem, Piperasilin-Tazobaktam, Trimetropim-Sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı gösterdikleri direnç oranları hesaplandı.



$$\text{X antibiyotiğine direnç oranı} = \frac{\text{X antibiyotiğine dirençli örnek sayısı}}{\text{Toplam örnek sayısı}} \times 100$$

### **3.7.2. *E. coli* Suşlarında Antibiyotiklerin Belirlenmesi ve Antibiyotip Oranlarının Hesaplanması**

Antibiyotip sınıflarının belirlenmesi için mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılık test sonuçları esas alındı. Kullanılan Amikasin, Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam, Sefoksitin, Siprofloksasin, Ertapenem, Gentamisin, İmipenem, Meropenem, Piperasilin-Tazobaktam, Trimetropim-Sulfametoksazol antibiyotiklerinin antibiyotik test sonuçlarının değerlendirilmesine göre her farklı sonuç gösteren suş için ayrı antibiyotip grupları oluşturuldu. Benzer antibiyotik test sonucu gösterenler ise aynı gruba dahil edildi.

Oluşturulan antibiyotiklerin tüm örnekler içindeki oranı hesaplandı.

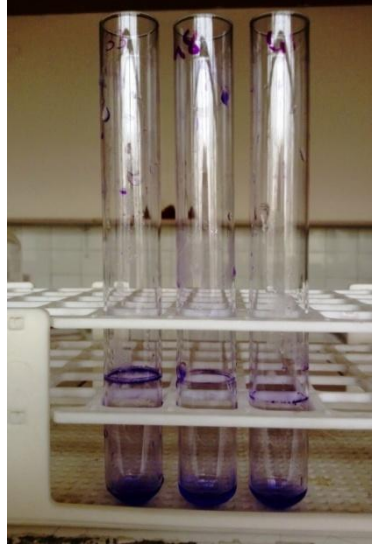
$$\text{X antibiyotip oranı} = \frac{\text{X antibiyotipini gösteren örnek sayısı}}{\text{Toplam örnek sayısı}} \times 100$$

### **3.8. *E. coli* Suşlarında Biyofilm Oluşumu**

*E. coli* suşlarında biyofilm oluşumunun incelenmesi Kalitatif Cam Tüp Testi ve Kantitatif Mikrodilüsyon Plak Testi ile yapıldı.

#### **3.8.1. *E. coli* Suşlarında ‘‘Kalitatif Cam Tüp Testi’’ İle Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi**

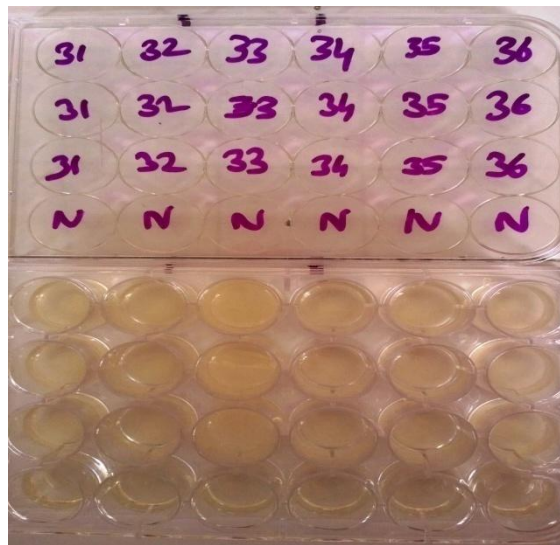
Cam tüplere hazırlanmış olan 5ml Luria Bertani Broth besiyerine *E. coli* suşları inoküle edilerek 37°C’de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Sıvı kültür cam tüpten uzaklaştırıldıktan sonra %1’lik kristal viyole çözeltisi eklendi ve elle yavaşça çalkalanarak boşaltıldı. Tüpler distile su ile yıkandıktan sonra kurutma kağıdının üzerine ters çevrilerek kurumaları sağlandı. Tüp çevresinde oluşan mor rengin koyuluk ve kalınlığına göre biyofilm oluşumu +, ++, +++ pozitif, renk oluşmaması durumu ise negatif olarak değerlendirildi [117], [118].



Şekil 3.9. Kalitatif cam tüp yöntemiyle biyofilm oluşumunun gözlenmesi

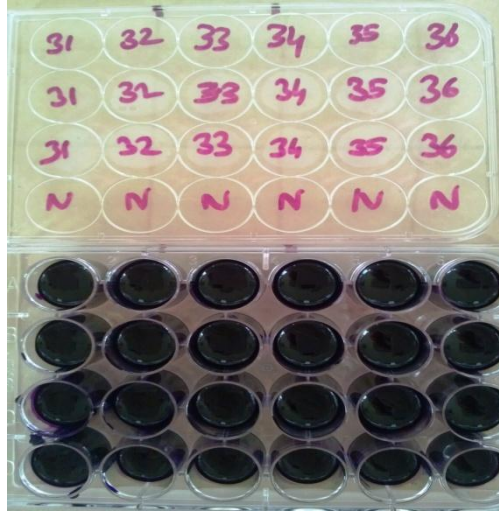
### 3.8.2. *E. coli* Suşlarında “Kantitatif Mikrodilüsyon Plak Testi” ile Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi

Çalışmamızda kullanılan *E. coli* suşları Luria Bertani Broth besiyerine Mac Farland 0.5 standardına uygun olacak şekilde inoküle edildi. Tüm örnekler 37°C’de 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından seyreltilen her bir örnek 24 kuyucuklu polistiren plağın üç kuyucuğuna aktarıldı. Böylelikle kontrol sağlanmış oldu. Negatif kontrol olarak her bir örnek için bir kuyucuğa sadece besiyeri eklendi. Örnekler kuyucuklara mikropipet ile aktarıldıktan sonra plakların kapakları kapatılarak 37°C’de 48 saatlik inkübasyona bırakıldı [117], [119].



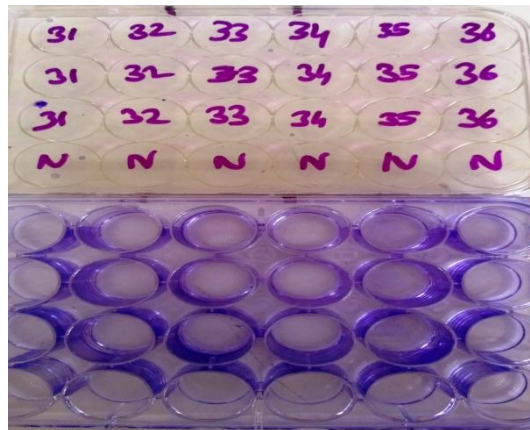
Şekil 3.10. İnkübasyonun ardından plakta oluşan kültürler

48 saatlik inkübasyon süresinin ardından plaklar etüvden alındı. Plakların kuyucukları fosfat tamponu (PBS) ile yıkandı. Yıkama işleminin ardından plaklar ters çevrilerek oda ısısında tamamen kurumaları sağlandı. Kuruma işleminden sonra kuyucuklara %1'lik kristal viyole çözeltisi ilave edildi ve çözeltinin oluşan biyofilm tabakalarına nüfuz ederek boyaması için 45 dakika bekleme alındı.



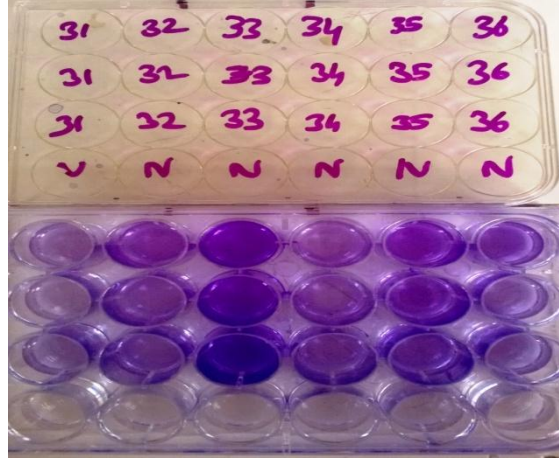
**Şekil 3.11.** Kültürler plaktan uzaklaştırıldıktan sonra %1'lik kristal viyole çözeltisi ile boyanması

45 dakika beklemenin ardından kristal viyole çözeltisi uzaklaştırılan plaklar fosfat tamponu ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra plaklar ters çevrilerek oda ısısında kurumaya bırakıldı.



**Şekil 3.12.** Kristal viyole çözeltisinin negatif kontrollerde boya artığı kalmayıp temizlenene kadar fosfat tamponu ile yıkanması

Tamamen kuruyan plaklara etanol çözeltisi ilave edilerek kristal viyole ile boyanan biyofilm tabakasının çözülmesi sağlandı.



**Şekil 3.13.** Yıkama işlemi tamamlanan plaklara 1ml etanol çözeltisinin eklenmesi

Daha sonra kristal viyole miktarı, 570nm'de UV visible - spektrofotometre cihazı ile (UV.1700 pharماسpec SHIMADZU) ölçüldü. Kontroller ile karşılaştırılmaları yapıldı [120], [121], [122].

Aksi belirtilmedikçe resimler tarafımdan Lumia 820 ile çekilmiştir.

#### 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Geçmiş yıllardan beri insan sağlığını tehdit eden hastalıkların büyük oranda doğada serbest halde bulunan mikroorganizmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Günümüzde teknolojinin günden güne ilerlemesiyle biyoloji ve tıp alanında yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmaların sonucunda doğada bulunan mikroorganizmaların sadece çok küçük bir kısmının planktonik olarak bulunduğu ortaya çıkarılmıştır. Geriye kalan büyük orandaki mikroorganizma çeşitliliğinin ise canlı veya cansız bir yüzey alana tutunmuş bir şekilde gelişip çoğalarak yaşamlarını sürdürdükleri ispatlanmıştır [5], [123], [124].

Biyofilm tabakasının öneminin araştırılması son yıllarda ivme kazanmıştır. Bu çalışmaların bir kısmı biyofilm oluşumunun moleküler temellerinin ve genetik yapısının araştırılması iken bir kısmı ise biyofilm kaynaklı hastalık ve enfeksiyonların tedavisi ve önlenmesi ile ilgili yapılan araştırmalardır. Yapılan birçok çalışma sonucunda biyofilm oluşumu Gram pozitif mikroorganizmalar, Gram negatif mikroorganizmalar ve funguslar üzerinde gözlemlenmiştir [57], [125], [126].

Mikroorganizmalar son yıllarda gittikçe artan oranlarda antibiyotik dirençliliği göstermektedirler. Mikroorganizmaların antibiyotik dirençliliğinde etkin rol oynayan birçok farklı mekanizma bulunmaktadır. Bilinen bu mekanizmalardan biri de mikroorganizmaların biyofilm oluşturmasıdır. Biyofilm tabakası, ekzopolisakkarit tabakasından oluşan matriks içine gömülü hücrelerin birbirlerine ve buldukları yüzeye tutunarak oluşturdukları çok tabakalı mikroorganizma topluluklarıdır. Biyofilm tabakası oluşturan mikroorganizmalar antibiyotiklere çeşitli mekanizmalarla direnç geliştirmektedirler [127]. Başlıca mekanizmalar; biyofilm tabakasındaki mikroorganizmaların büyüme hızlarının planktonik eşdeğerlerine göre farklılık göstermesi, biyofilm tabakasının antibiyotik etki mekanizmasına olumsuz etkisi ve mikroorganizmaların buldukları mikroçevrenin değişmesinin antibiyotiklere negatif etki yaratmasıdır [128].

Biyofilm tabakası insan vücudunda doğal florada oluşabilmekte iken bunun yanı sıra teknolojinin ilerlemesiyle geliştirilen ve gün geçtikçe yaygınlaşmakta olan vücut içi ve vücut dışı kullanılabilen biyomedikal materyallerin ve tıbbi cihazların yüzeyinde de oluşabilmektedir. Biyomedikal materyallere örnek olarak kataterler, ortopedik protezler, sondalar, kontakt lensler, uterus içinde kullanılan araçlar ve mekanik kalp kapakçıkları

verilebilmekte, tıbbi cihazlara örnek olarak da hastanede ve ameliyathanede kullanılan ve sterilizasyonu sağlanan fakat biyofilm tabakası oluşumu gözlenebilen ameliyathane ve hastane materyalleri örnek olarak verilebilmektedir. Bu materyal ve cihazların hasta sağlığı ve tedavisi açısından birçok avantajı bulunmakla birlikte; vücut ile temas halinde olan yüzeylerinde oluşan biyofilm tabakası nedeniyle de insan sağlığını tehdit edebilmektedir [44], [128].

Antibiyotik dirençliliği gösteren ve biyofilm tabakası oluşturan mikroorganizmalar bir yandan insan sağlığını tehdit etmekte iken, öte yandan doğada kendiliğinden oluşan veya yapay yollarla oluşumları sağlanan biyofilm tabakalarının ise faydalı özellikleri bulunabilmektedir. Faydalı biyofilmlere endüstriyel atık suların temizlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar ve oluşturdukları biyofilm tabakası örnek olarak verilebilmektedir [88].

Doğada, olumlu ve olumsuz birçok etkisi bulunan biyofilm tabakasının bizim çalışmamız kapsamında insan sağlığı açısından tehdit unsuru oluşturan olumsuz etkileri araştırıldı. Bu çalışmada vücutta normal flora elemanı olarak bulunan, fırsatçı patojen olma özelliğinden dolayı birçok farklı hastalık etkeni oluşturabilen *E. coli* suşlarının antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi ve biyofilm oluşumlarının incelenmesi amaçlandı.

#### **4.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma**

Çalışmada kullanılan mikroorganizma olan *E. coli* suşları, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların en sık rastlanılan etkeni olarak bilinmektedir. *E. coli* insan ve hayvanların bağırsak florasında doğal flora elemanı olarak bulunmaktadır. İmmün sistemin zayıf düştüğü durumlarda ise konağın kendi flora elemanı olan *E. coli* suşlarının bağırsak dışına çıkarak dokulara hasar vermesiyle veya dış ortamda bulunan *E. coli* suşlarının konağa bulaşma yolu ile çeşitli enfeksiyonların oluşumu gözlenmektedir. Bu enfeksiyonların başlıcaları; üriner sistem enfeksiyonları, enterik enfeksiyonlar, nasokomiyal enfeksiyonlar, yeni doğan menenjitleri, abse ve yara enfeksiyonlarıdır [34].

Hastane enfeksiyonları olarak bilinen enfeksiyonlar ve bunların etkenleri olan mikroorganizmalar çalışma yapılan bölgeye ve bölgedeki hastanenin özelliklerine göre çeşitlilik göstermekle birlikte *E. coli* suşlarının tüm bölgelerdeki hastanelerde yaygın olarak gözlemlendiği görülmektedir [129].

Çalışmamızda, Ankarada bulunan bir hastanenin farklı servislerinden 50 adet *E. coli* suşu toplanarak fenotipik yöntemlerle teşhisi gerçekleştirildi.

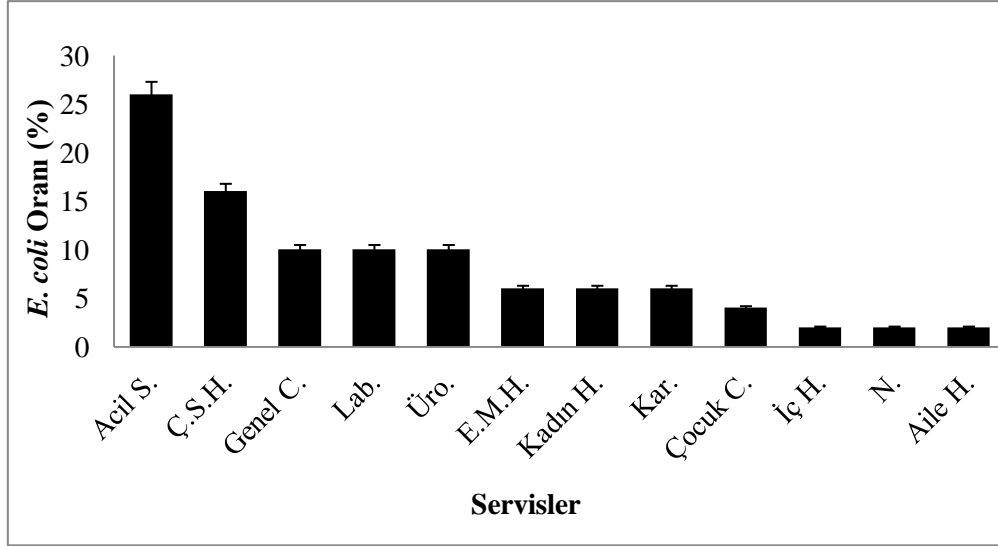
Yapılan deneyler sonucunda Eosin Metilen Blue (EMB) ve Endo Agar'da parlak, metalik röfle oluşturan, laktoz, indol ve metil kırmızısı testleri pozitif; sitrat ve üreaz testleri negatif, TSI besiyerinde laktozu kullanarak asit ve gaz oluşturan, H<sub>2</sub>S oluşturmeyan Gram negatif basil şeklindeki suşlar *E. coli* olarak değerlendirildi ve çalışmaya bu suşlarla devam edildi [14], [19], [20].

#### **4.2. *Escherichia coli* Suşlarının Servislere Göre Dağılım Oranlarının Hesaplanması**

Çalışmamızda kullanılan *E. coli* suşları, toplandığı hastanenin farklı servislerine başvuran hastalardan izole edilmiştir. *E. coli* gibi hastane ve toplum kökenli enfeksiyonların takibinde, suşların hastanedeki servislere ait dağılım oranlarının belirlenmesi, hastanedeki enfeksiyon yayılma oranlarının tespit edilmesi ile birlikte hastalıklara karşı önlem alınması ve sonuç olarak da hastalıkların görülme sıklıklarının azaltılması bakımından önem teşkil etmektedir.

Bu bağlamda bizim çalışmamızda da Ankara'daki özel bir hastanenin farklı servislerinden toplanan *E. coli* suşlarının servislere göre dağılım oranları hesaplandı.

Bu sonuçlara göre *E. coli* suşlarının 12 farklı servis ünitesinden izole edildikleri belirlendi (Şekil 4.1.).



**Şekil 4.1.** *E. coli* suşlarının servislere göre dağılım oranları

*Acil S.:* Acil Servis; *Ç.S.H.:* Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları; *Genel C.:* Genel Cerrahi; *Lab.:* Laboratuvar; *Üro.:* Üroloji; *E.M.H.:* Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları; *Kadın H.:* Kadın Hastalıkları; *Kar.:* Kardiyoloji; *Çocuk C.:* Çocuk Cerrahisi; *İç H.:* İç Hastalıkları; *N.:* Nöroşirurji; *Aile H.:* Aile Hekimliği

\*Servislere göre dağılım oranları Bölüm 3.3’de anlatıldığı şekilde hesaplandı.

\*\*Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Çalışmamızda *E. coli* suşlarına en çok rastlanan servisin Acil Servis (%26) olduğu ve bu servisi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları servisinin (%16) izlediği belirlendi (Şekil 4.1.). Hacettepe Üniversitesi Biyoloji bölümünde yapılan başka bir araştırmaya göre *E. coli* suşlarının servislere göre dağılımı incelendiğinde Acil Servis ünitesinde izole edilen *E. coli* oranının bizim çalışmamızla benzer özellik göstererek en yüksek oranda görüldüğü bildirilmiştir [130]. Ayrıca İnönü Üniversitesinde yapılan bir başka araştırmada da Acil Servisten izole edilen *E. coli* oranının en yüksek oranda olduğu bildirilmiştir [131].

Çalışmamızda Acil Servis ünitesine başvuran hastalarda *E. coli* suşlarının görülme sıklığının en yüksek oranda görülmesinin etkenlerini Acil Servise başvuran hasta sayısının fazlalığı, bu serviste gözlemlenen hastalıkların ve konulan teşhislerin diğer servislere oranla çok daha fazla çeşitlilikte olması oluşturmaktadır. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisine başvuran hastalarda *E. coli* suşlarının görülme sıklığının Acil Servisten sonra en yüksek oranda olmasının önemli etkenlerinden biri ise *E. coli* suşlarının fırsatçı patojen mikroorganizma olma özelliğini taşıması ve bu sebeple yetişkin bireylere oranla immün sistemin daha düşük olduğu çocuklarda enfeksiyonların gözlemleniyor olması olabilir.



*E. coli* suşları Genel Cerrahi, Laboratuvar ve Üroloji Servislerinde eşit oranda (%10) gözlemlenmiştir ve sıralama olarak Acil Servis ile Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisinden hemen sonra gelmektedir.

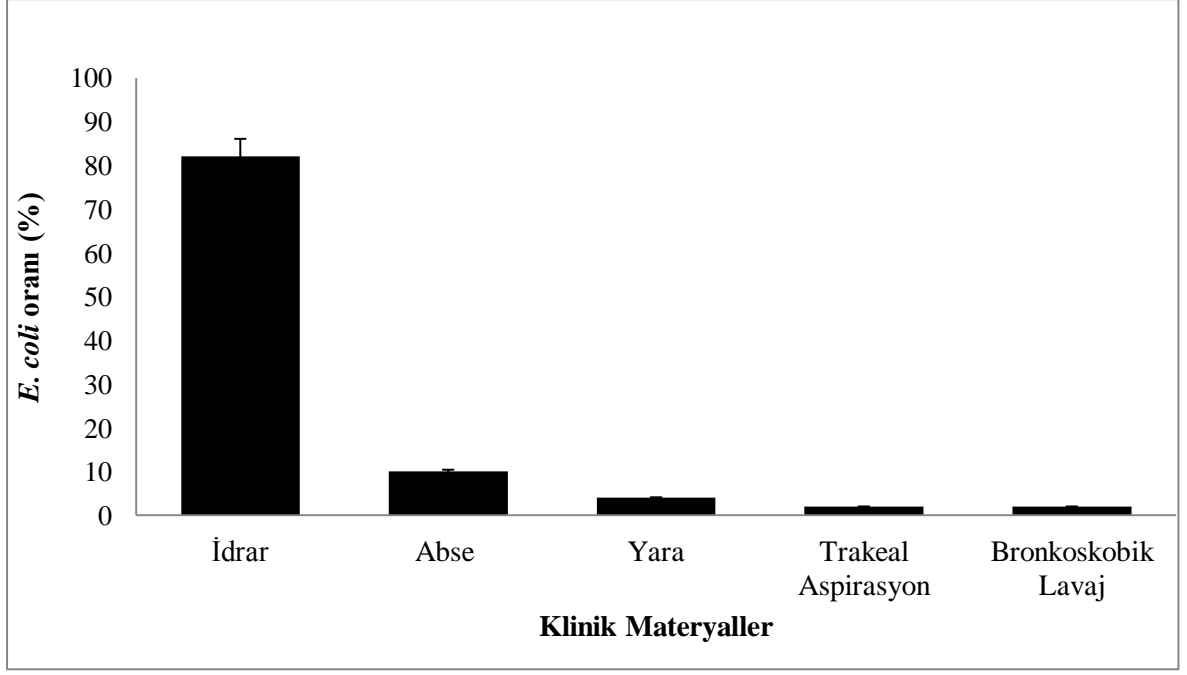
*E. coli* kaynaklı bu enfeksiyonların diğer servisler de dahil olmak üzere özellikle Acil Servis ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servislerine gelen örneklerde doğru teşhislerinin yapılması ve gerekli tetkiklerin yapılarak hekimlerin de doğru tedavi yollarını hastalara önermesi ile enfeksiyonların ilerlemesi ve mikroorganizmanın vücut için daha zararlı hale gelmesi önlenebilecektir.

#### **4.3. *E. coli* Suşlarının İzole Edildikleri Klinik Materyallere Göre Dağılım Oranlarının Hesaplanması**

*E. coli* suşlarının izole edildikleri klinik materyallere göre dağılım oranlarının belirlenmesi, enfeksiyonların bulaşma yollarının azaltılması ve tedavi sürecinin hız kazanması bakımından büyük önem taşımaktadır.

Bu bağlamda bizim çalışmamızda *E. coli* suşlarının izole edildikleri klinik materyallere göre dağılım oranları hesaplandı.

Bu sonuçlara göre *E. coli* suşlarının 5 farklı klinik materyalden izole edildikleri belirlendi (Şekil 4.2.).



**Şekil 4.2.** *E. coli* suşlarının klinik materyallere göre dağılım oranları

\*Klinik materyallere göre dağılım oranları Bölüm 3.4.'te anlatıldığı şekilde hesaplandı.

\*\*Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

*E. coli* suşlarının en çok izole edildiği klinik materyalin idrar (%82) olduğu belirlendi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yapılan bir araştırmada *E. coli* suşlarının en çok rastlandığı klinik materyalin idrar olduğu belirtilmiştir [1]. Bu sonuç bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca yapılan diğer literatür çalışmalarında da *E. coli* suşlarının en çok rastlandığı klinik materyalin idrar olduğu gözlenmiştir [132], [133], [134], [135]. Tüm bu sonuçlar bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Ülkemizdeki Acil Servislerde en sık rastlanılan enfeksiyonlar idrar yolu enfeksiyonlarıdır. İdrar yolu enfeksiyonlarının en önemli etkenlerini *E. coli* suşları oluşturmaktadır [136], [137].

İdrar yolu enfeksiyonları ile baş etmenin en temel yolu, çalışmamızda *E. coli* suşlarının en sık görüldüğü servisler olan Acil Servis ile Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servislerinin hekimleri başta olmak üzere, tüm hekimlerin hastalara uygun olan tedaviyi başlatarak hastaların en kısa sürede tedavi edilmelerini sağlamaları olacaktır. Böylece çalışmamızdaki hastanede görülen *E. coli* kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının vücut için daha tehlikeli

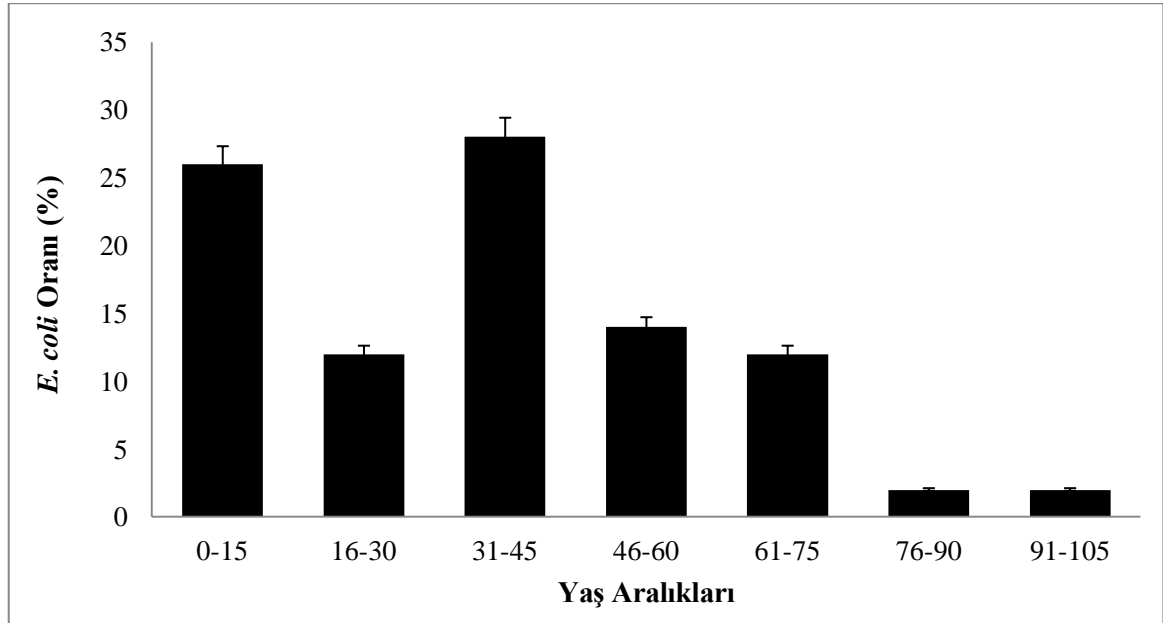
hale gelmesi nispeten önlenmiş olacak ve böylelikle diğer servislere yayılımının önüne geçilmesi sağlanacaktır.

#### 4.4. *E. coli* Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Yaşlarına Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

Hastaların fiziksel özellikleri ve hastalıklara karşı vücutlarının oluşturduğu savunma sistemleri belirli yaş aralıklarına göre farklılıklar göstermektedir. Aynı hastalığa bebeklik, çocukluk çağı, genç yaş, orta yaş ve yaşlılık evresinde yakalanan kişilerin bağışıklık sistemlerine bağlı olarak verdikleri tepkiler de farklı olmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda kullanılan *E. coli* suşlarının belirli yaş gruplarına göre belirlenmesi, istatistiksel olarak hangi yaş grubunda hangi yüzde ile *E. coli* suşuna bağlı hastalıkların görüldüğünün öğrenilmesi bakımından önem taşımaktadır.

Bu bağlamda bizim çalışmamızda da *E. coli* suşlarının izole edildikleri hastaların yaşlarına göre dağılım oranları hesaplandı.

Bu sonuçlara göre yaş aralıkları 0-15, 16-30, 31-45, 46-60, 61-75, 76-90, 91-105 olmak üzere 7 farklı yaş grubu oluşturuldu (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. *E. coli* suşlarının hasta yaş aralıklarına göre dağılım oranları

\*Yaş aralıklarına göre dağılım oranları Bölüm 3.5.'de anlatıldığı şekilde hesaplandı.

\*\*Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

*E. coli* suşlarının en çok izole edildiği grup 31-45 (%28) ve 0-15 (% 26) yaş aralığında olan hastalar olarak belirlendi (Şekil 4.3.). Çalışmamızdaki 0-15 yaş aralığında sıklıkla gözlenen *E. coli* enfeksiyon oranları, *E. coli* oranının servislere göre dağılımı ile birlikte incelendiğinde; Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi ile 0-15 yaş aralığında enfeksiyon görülme oranı birbiriyle anlamlı bulunmuştur.

Çalışmamızda, *E. coli* suşunun en çok izole edildiği yaş grupları; çocuk ve yetişkin yaş grupları olarak gözlenmektedir (Şekil 4.3.) Bizim çalışmamızda orta yaş grubunda *E. coli* suşlarının daha yüksek oranda görülmesinin nedeni, çalışmamızdaki hastaneye başvuran kişi sayısının yaş ortalaması ve hasta profilleri ile ilişkili olduğu söylenebilir.

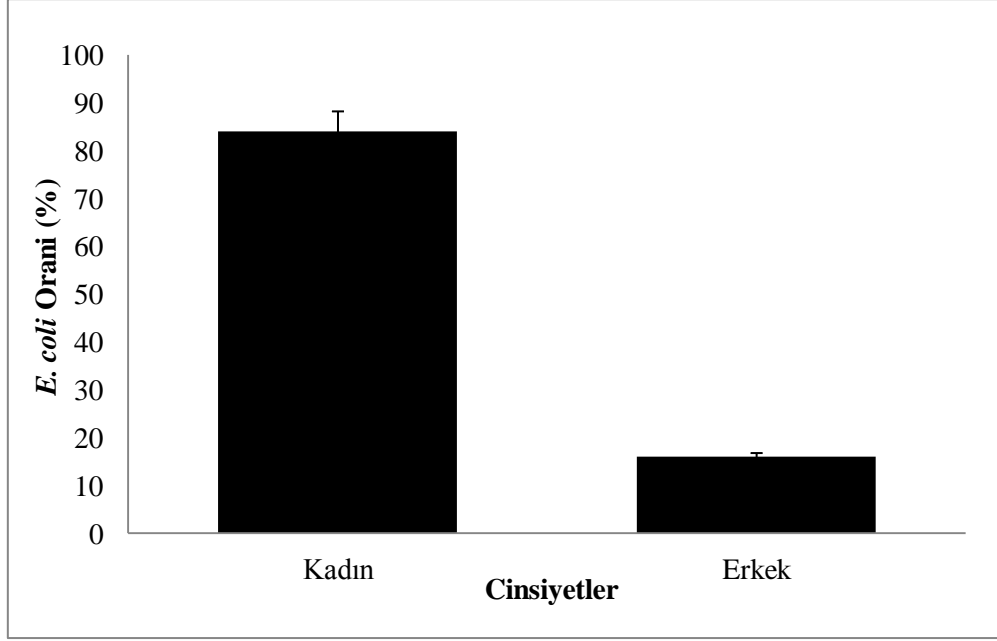
Ülkemiz nüfus bakımından genç ve yetişkin nüfusa sahip bir ülkedir. Bizim çalışmamızdaki yaş aralıklarında bulunan kişi sayısına bakıldığında, genç ve yetişkin yaş grubuna sahip olan hasta sayısının orta yaşlı ve yaşlı hastalara oranla daha fazla olduğunu görmek mümkündür.

#### **4.5. *E. coli* Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetine Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi**

Hastalıklara yakalanma oranlarının belirlenmesinde cinsiyet faktörü önemli bir yer teşkil etmektedir. Kadın ve erkeğin sahip oldukları farklı genetik materyaller ve farklı fizyolojik özellikleri nedeni ile hastalıklara yakalanmalarında da farklılıklar gözlenmektedir. Çalışmamızda *E. coli* suşlarının hastaların cinsiyetine göre dağılımının belirlenmesi, suşların farklı cinsiyetteki hastalarda hangi sıklıkla gözlemlendiğinin araştırılması ve tedavi yollarının kişiye özgü olarak belirlenmesi bakımından önem taşımaktadır.

Bu bağlamda bizim çalışmamızda da *E. coli* suşlarının izole edildikleri hastaların cinsiyetlerine göre dağılım oranları hesaplandı.

Bu sonuçlara göre *E. coli* suşlarının %84'ünün kadın, %16'sının erkek hastadan izole edildiği belirlendi (Şekil 4.4.).



**Şekil 4.4.** *E. coli* suşlarının hastaların cinsiyetlerine göre dağılım oranları

\*Cinsiyete göre dağılım oranları Bölüm 3.6.'da anlatıldığı şekilde hesaplandı.

\*\*Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Erciyes üniversitesinde 2001 yılında yapılan bir çalışmada *E. coli* suşlarının %66'sının kadın hastalardan izole edildiği gösterilmiştir [138]. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma hastanesinde 2009 yılında yapılan diğer bir çalışmada da *E. coli* suşlarının %79.2'sinin kadın, %20.8'inin erkek hastalardan izole edildiği belirlenmiştir [1]. Tekirdağ Devlet Hastanesi ve Namık Kemal Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde yapılan başka bir çalışmada *E. coli* üremesi gözlenen 561 örnekten 446'sının kadın hastalardan, 115'inin ise erkek hastalardan izole edildiği saptanmıştır [139].

Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada ise *E. coli* ile kontamine olmuş idrar yolu enfeksiyonu tanısı konulan kişilerden %84'ünün kadın, %26'sının erkek olduğu belirlenmiştir [140]. Yunanistanda yapılmış diğer bir çalışmada ise üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının %84'ünün kadın hastalardan izolasyonunun gerçekleştiği belirlenmiştir [141].

Yurt içi ve yurt dışında yapılan tüm bu çalışmalar bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Ülkemizde ve dünyada yapılan birçok çalışmada idrar yolu enfeksiyonlarının en önemli etkenlerinden olan *E. coli* suşları büyük oranda kadın hastalardan izole edilmiştir. Bu

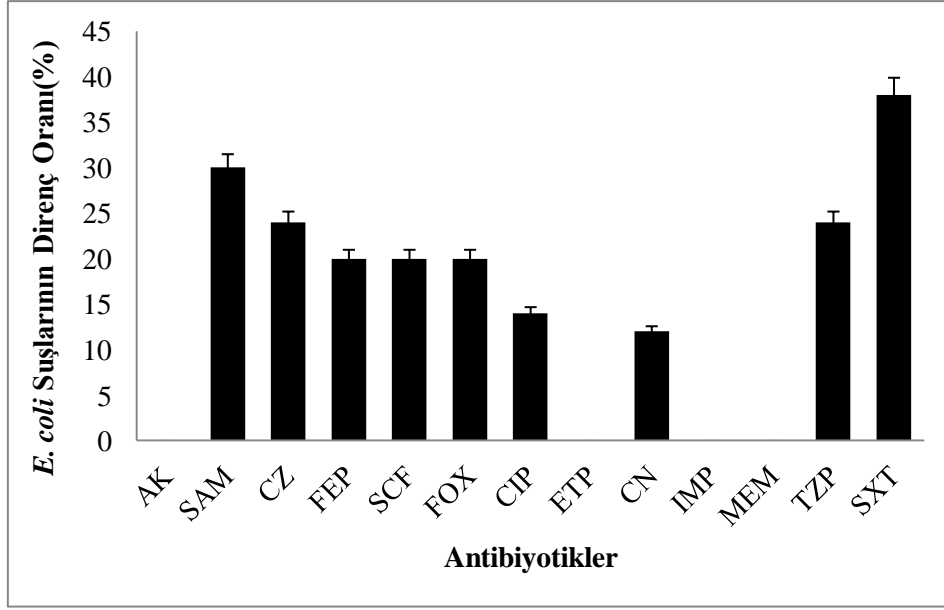
bilgiye ek olarak kadınların %10-35'inin yaşamları boyunca en az bir kez üriner sistem enfeksiyonu geçirdiği literatürde belirtilmektedir [140], [141], [142]. Bu durumun en önemli nedeni kadınların ve erkeklerin genital bölgelerinde olan yapısal farklılıktan ve kadınların genital bölgelerinin idrar yolu enfeksiyonlarına yakalanmalarında daha elverişli olmasından kaynaklanmaktadır. Kadınların genital bölge temizliğine özen göstermesi ve toplumun eğitim düzeyinin yükseltilerek kişilerin bu konuda daha bilinçli olmalarının sağlanması ile özellikle kadınlarda sıklıkla görülen bu enfeksiyonların önüne geçmek mümkün olacaktır.

#### **4.6. *E. coli* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi**

Mikroorganizmaların etken olduğu hastalıkların tedavisinin antibiyogram testleri sonucunda doğru antibiyotik kullanılarak yapılması önem taşımaktadır. Günümüzde mikroorganizmalar her geçen gün antimikrobiyal ajanlara karşı daha da dirençli hale gelmektedirler [143]. Mikroorganizma kaynaklı enfeksiyonlarda hastaların antibiyogram testleri yapılmaksızın antibiyotik tedavisine başlanması ve hastaların doktor kontrolünde olmadan bilinçsiz antibiyotik kullanmaları mikroorganizmaların direnç oluşturma mekanizmalarını arttırmalarında en önemli etkenler olarak görülmektedir. *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, kullanılacak antibiyotiklerin doğru seçimi ve böylece suşların antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç mekanizmalarının kontrol altına alınması bakımından önem taşımaktadır.

Bu bağlamda bizim çalışmamızda da *E. coli* suşlarının farklı antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç oranları hesaplandı.

Bu sonuçlara göre *E. coli* suşlarının 13 farklı antibiyotiğe karşı geliştirdikleri direnç oranları belirlendi (Şekil 4.5.).



**Şekil 4.5.** *E. coli* suşlarında antibiyotik direnç oranları

AK: Amikasin, SAM: Ampisilin-Sulbaktam, CZ: Sefazolin, FEP: Sefepim, SCF: Sefoperazon-Sulbaktam, FOX: Sefoksitin, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, CN: Gentamisin, IMP: İmipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin-Tazobaktam, SXT: Trimetropim-Sulfometoksazol

\*Antibiyotik direnç oranları Bölüm 3.7.1.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

\*\*Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Bu sonuçlara göre en yüksek antibiyotik direnci Trimetropim–Sulfometoksazol (%38) antibiyotiğine karşı gözlemlendi (Şekil 4.5). Amerika Birleşik Devletlerinde üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşları ile yapılan bir çalışmada Trimetropim-Sulfometoksazol direnci %20 olarak bulunmuştur [132]. Brezilyada 2003 yılında yapılan bir çalışmada araştırmacılar *E. coli* suşlarının Trimetropim–Sulfometoksazol'a karşı geliştirilen direnç oranını %50 olarak belirlemişlerdir [133]. Sivas bölgesindeki sağlık ocaklarında yapılan bir çalışmada üriner sistem enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *E. coli* suşlarında Trimetoprim-Sulfometoksazol antibiyotiğine karşı direnç oranının %34.7 olduğu belirlenmiştir [144]. Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamızın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda Trimetropim-Sulfometoksazol direnç oranına en yakın antibiyotik direnci Ampisilin-Sulbaktam antibiyotiğinde gözlenmektedir. Hindistanda yapılan bir çalışmada *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının Ampisilin'e %85.3, oranında görüldüğünü açıklamışlardır [134]. Hindistan'daki direnç oranlarının bizim çalışmamıza göre çok daha yüksek oranda görülmesi, ülkelerin sosyoekonomik durumları, yaşam koşulları, etkin ilaç

kullanımları ve gelişmişlik düzeyi ile açıklanabilmektedir. Bunlara ilave olarak bizim çalışmamızda beta-laktamaz inhibitörü olan Sulbaktam'ın Ampisilin ile birlikte kullanımı ile ilacın etkileşiminde artış gözlenmekte ve bu etki çalışmamızdaki antimikrobiyal direnç oranını düşürmektedir [143].

Amikasin, Ertapenem, İmipenem ve Meropenem antibiyotiklerinin çalışmamızdaki tüm *E. coli* suşlarına duyarlı oldukları belirlendi. Ülkemizde 2004-2005 yılları arasında enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *E. coli* suşları ile yapılan bir çalışmada imipenem ve meropenem antibiyotiklerine olan direnç %1 olarak belirlenmiştir [145].

Ankara'da 2000 yılında üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarıyla yapılan bir çalışmada Amikasin antibiyotiğine %6.1 gibi az bir oranda direnç saptanmıştır. Bizim çalışmamızda Amikasin antibiyotiğine direnç gözlenmemiştir. Aynı çalışmada bizim çalışmamız ile benzer olarak Ertapenem antibiyotiğine direnç saptanmamıştır. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla *E. coli* suşlarının Amikasin ve Ertapenem antibiyotiklerine karşı geliştirdikleri direnç oranlarının çok az oranda veya hiç görülmemesi bakımından benzerlik göstermektedir [146].

Mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç oranları gün geçtikçe artmakta ve insan sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Birden fazla antibiyotiğe olan direnç gelişiminin artması da mikroorganizmaların çoklu direnç gelişimini arttırmaktadır. Antibiyogram testlerinin maliyeti arttırdığı ve bu nedenle sıklıkla uygulanmadığı hekimler tarafından savunulmaktadır. Fakat günümüzde mikroorganizmaların gitgide artan oranda çoklu direnç geliştirmeleri çok daha büyük ekonomik kayıplara ve mortalite ile sonuçlanan durumlara zemin hazırlamaktadır [147].

Antibiyogram testlerinin yaygınlaşmasını sağlamak bu olumsuz durumların önüne geçmek bakımından en önemli etken olarak görülmektedir. Ayrıca hastaların yanlış ve gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi, antibiyotiklerin nasıl doğru ve etkin kullanılması gerektiği bakımından yetkili birimler tarafından bilgilendirmelerin yapılması da antimikrobiyal direnç oranlarının artmasını önlemek amacıyla yapılacak çalışmalar arasında olmalıdır. Son olarak her ülke, her bölge ve her hastanenin kendi antimikrobiyal direnç oranlarını belirli aralıklarla tespit etmesi de hastalara uygulanacak antibiyotik seçiminde hekimlere yol gösterici olması bakımından önem teşkil etmektedir.



#### 4.7. *E. coli* Suşlarının Antibiyotip Sınıflarının Belirlenmesi ve Antibiyotip Oranlarının Hesaplanması

Antibiyotiplendirme, mikroorganizmaların dirençli ve duyarlı oldukları antibiyotiklere karşı yapılan sınıflandırmadır. Antibiyotiklere karşı benzer dirençlilik ve duyarlılık gösteren suşlar aynı antibiyotip grubuna dahil edilmektedirler. Mikroorganizmaların antibiyotip sınıflarının belirlenmesi, benzer suşların aynı sınıfta olması ve böylece enfeksiyonlarda kullanılacak antibiyotik seçiminin doğru tespit edilmesi bakımından önem taşımaktadır.

Bu bağlamda bizim çalışmamızda da *E. coli* suşlarının antibiyotip oranları hesaplandı ve benzer profil gösteren suşlar aynı antibiyotip grubuna dahil edildi (Çizelge 4.1.).

**Çizelge 4.1. *E. coli* Suşlarının Antibiyotip Sınıfları**

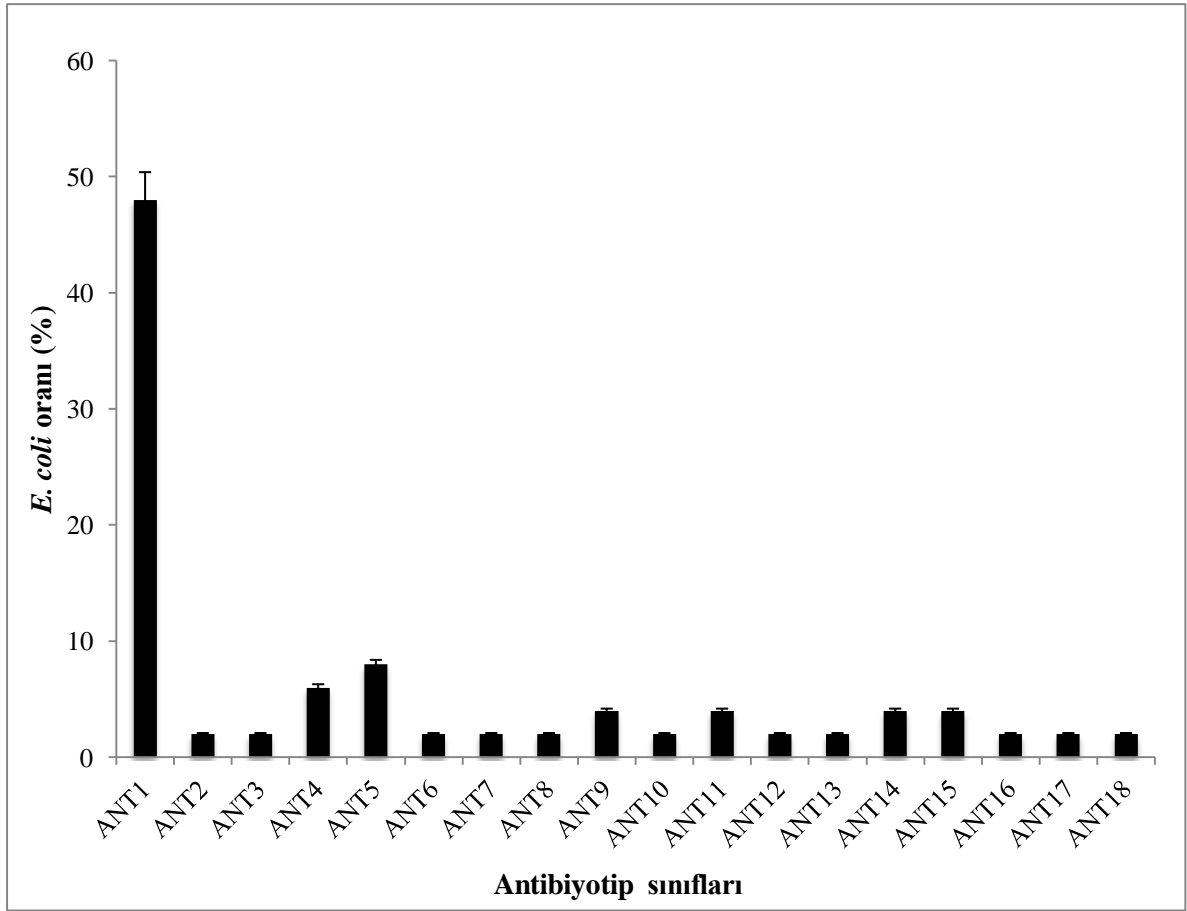
Suş Numarası	AK	SAM	CZ	FEP	SCF	FOX	CIP	ETP	CN	IPM	MEM	TZP	SXT	Antibiyotip
Ec1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec2	H	I	D	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT7
Ec3	H	D	D	D	D	D	D	H	H	H	H	D	D	ANT12
Ec4	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec5	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec6	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT3
Ec7	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	ANT4
Ec8	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec9	H	D	D	D	D	D	D	H	D	H	H	D	D	ANT9
Ec10	H	D	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	ANT8
Ec11	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec12	H	I	H	H	H	H	D	H	D	H	H	H	D	ANT15
Ec13	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	ANT5
Ec14	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec15	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec16	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec17	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	ANT5
Ec18	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	ANT5
Ec19	H	D	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANTT6
Ec20	I	D	D	D	D	D	D	H	D	H	H	D	D	ANT18
Ec21	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec22	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1

**Çizelge 4.1. *E. coli* Suşlarının Antibiyotip Sınıfları (devam)**

Suş Numarası	AK	SAM	CZ	FEP	SCF	FOX	CIP	ETP	CN	IPM	MEM	TZP	SXT	Antibiyotip
Ec23	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec24	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec25	H	D	D	D	D	D	H	H	H	H	H	D	H	ANT14
Ec26	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec27	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec28	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec29	H	D	H	D	D	D	H	H	H	H	H	D	D	ANT11
Ec30	H	H	D	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	ANT4
Ec31	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec32	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	ANT4
Ec33	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec34	H	I	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	ANT5
Ec35	H	D	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT2
Ec36	H	D	D	H	I	H	H	H	H	H	H	D	D	ANT16
Ec37	H	I	H	H	H	H	D	H	D	H	H	H	D	ANT15
Ec38	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec39	H	D	D	D	D	D	H	H	H	H	H	D	D	ANT11
Ec40	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec41	H	D	D	D	D	D	D	H	D	H	H	D	D	ANT9
Ec42	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec43	H	D	D	D	D	D	D	H	D	H	H	D	H	ANT17
Ec44	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec45	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec46	H	D	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	D	ANT10
Ec47	H	D	D	D	D	D	I	H	H	H	H	D	D	ANT13
Ec48	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ec49	H	D	D	D	D	D	H	H	H	H	H	D	H	ANT14
Ec50	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1

AK: Amikasin, SAM: Ampisilin-Sulbaktam, CZ: Sefazolin, FEP: Sefepim, SCF: Sefoperazon-Sulbaktam, FOX: Sefoksitin, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, CN: Gentamisin, IPM: İmipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin-Tazobaktam, SXT: Trimetropim-Sulfometoksazol

Bu sonuçlara göre çalışmamızda kullanılan 50 adet *E. coli* suşunun 13 antibiyotiğe karşı 18 farklı antibiyotip grubu oluşturduğu belirlendi. (Şekil 4.6.)



**Şekil 4.6.** *E. coli* suşlarının antibiyotiplere göre dağılımı

\*Antibiyotiplere göre dağılım oranları Bölüm 3.7.2.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

\*\*Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Çalışmamızda kullanılan *E. coli* suşlarının 18 farklı antibiyotip profili oluşturdukları belirlendi. 18 farklı antibiyotip profili arasından en yüksek oranda gözlenen antibiyotip profili ANT1 (%48) olarak belirlendi.

Çalışmamızda ANT1 profili diğer antibiyotip profillerine kıyasla göre çok daha yüksek oranda gözlemlendi (Şekil 4.6.). Bu bulgular, ANT1 profiline benzer özellik gösteren suşların antibiyotip profili göz önünde bulundurularak hastalara doğru antibiyotik tedavileri uygulanması ve böylelikle yayılımının önüne geçilmesi bakımından önem teşkil etmektedir. Bizim sonuçlarımıza göre ANT1 antibiyotip profilinde gözlenen suşların hiçbir antibiyotiğe karşı dirençli olmadığı saptanmıştır. Bu da hastaların tedavi edilmesinin ve bu suşlarla mücadelenin daha kolay olduğunu bize göstermektedir.

#### 4.8. *E. coli* Suşlarında Biyofilm Oluşumu

Canlı veya cansız bir yüzey alanına tutunan mikroorganizmalar, polimerik materyal sentezleyerek ve sentezlenen polimerik materyal içerisinde bir arada yaşayarak biyofilm tabakası oluşturmaktadırlar [4], [5], [6].

Vücut içerisinde kullanılan yabancı cisimlerin yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasına daha önce belirtildiği gibi kataterlerin yüzeyinde oluşan biyofilm örnek olarak verilebilir. İdrar yoluna yerleştirilen kataterlerdeki biyofilm oluşumu kataterin iç ve dış yüzeyinde gözlenebilmektedir. Bölüm 2.1.4.'te belirtildiği gibi kataterin vücut içinde kalma süresi arttıkça, *E. coli*'nin biyofilm oluşturma yüzdesi de o derece artmaktadır. İlk bir hafta sonrasında kullanımı devam eden kataterlerin biyofilm oluşumu gözlenme oranının büyük oranda arttığı yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır [4]. Ayrıca üriner kataterler gibi vücut içine yerleştirilen diğer biyomateryaller ve ameliyathanelerde kullanılan tıbbi cihazlarda da mikroorganizmaların yüzeye kolonize olması ve biyofilm tabakası oluşturması biyomateryallerin kullanıldığı vücut bölümüne ve uygulama yapılan alanlardaki sterilizasyona göre farklılık gösterebilmektedir [4], [148].

Mikroorganizmaların bir arada kümeler halinde ekzopolisakkarit materyal içerisinde yaşamaları antimikrobiyal ajanların biyofilm tabakasından geçişini zorlaştırmakta ve biyofilm tabakası içerisinde yaşayan mikroorganizmaları antimikrobiyal maddelere karşı daha dirençli hale getirmektedir [8], [41].

Çalışmamızda farklı klinik materyallerden izole edilen *E. coli* suşlarının Kalitatif Cam Tüp Testi ve Kantitatif Mikrodilüsyon Plak Testi ile biyofilm oluşumları araştırıldı. Kantitatif Mikrodilüsyon Plak Testi ile Biyofilm Oluşumu incelenen suşlar, biyofilm oluşturma potansiyellerine göre farklı gruplar altında sınıflandırıldı.

Spektrofotometrede okunan OD değerlerine göre BF Tip1, BF Tip2, BF Tip3, BF Tip4 ve BF Tip5 olmak üzere 5 farklı biyofilm sınıfı belirlendi (Çizelge 4.2.).

*E. coli* suşları arasından en yüksek oranda biyofilm oluşturan suşların 1.0 ve üzeri OD ile BF Tip1 grubuna dahil olan Ec 3 ve Ec 33 suşları olduğu gözlemlendi. (Şekil 4.7.)

0.7 ile 1 OD arasında biyofilm oluşturan ve BF Tip2 grubuna dahil olan suşlar Ec20 ve Ec9 olarak belirlendi. (Çizelge 4.2.)

Suşların en yüksek oranda görüldüğü biyofilm sınıfı OD 0.1 – 04 arasında %44'lük bir oranla BF Tip4 grubu oldu (Çizelge 4.2.). BF Tip4 biyofilm sınıfında bulunan suşların

%77.2'sinin çeşitli servis ünitelerinden izole edilen idrar klinik materyali olduğu belirlendi (Şekil 4.2.).

İdrar klinik materyali sağlıklı kişilerde normal koşullarda sterildir. İdrarda lökosit, eritrosit gibi kan hücreleri, epitel döküntüleri ve mikroorganizmaların bulunması benzeri durumlar enfeksiyon varlığına işaret etmektedir.

2014 yılında yapılan birçok çalışmada tekrarlayan ve tedavi edilmesi güçleşen idrar yolu enfeksiyonlarının kataterler ve vücut içerisinde kullanılan tamponlar gibi biyomateryal üzerinde oluşan biyofilm tabakası kaynaklı olduğu bildirilmiştir [149], [150]. Daha önce belirtildiği gibi bizim çalışmamızda BF Tip4 biyofilm sınıfında %77.22'lik idrar materyali oranının gözlenmesi ile yapılan bu çalışmalar ile benzer özellikler taşımaktadır.

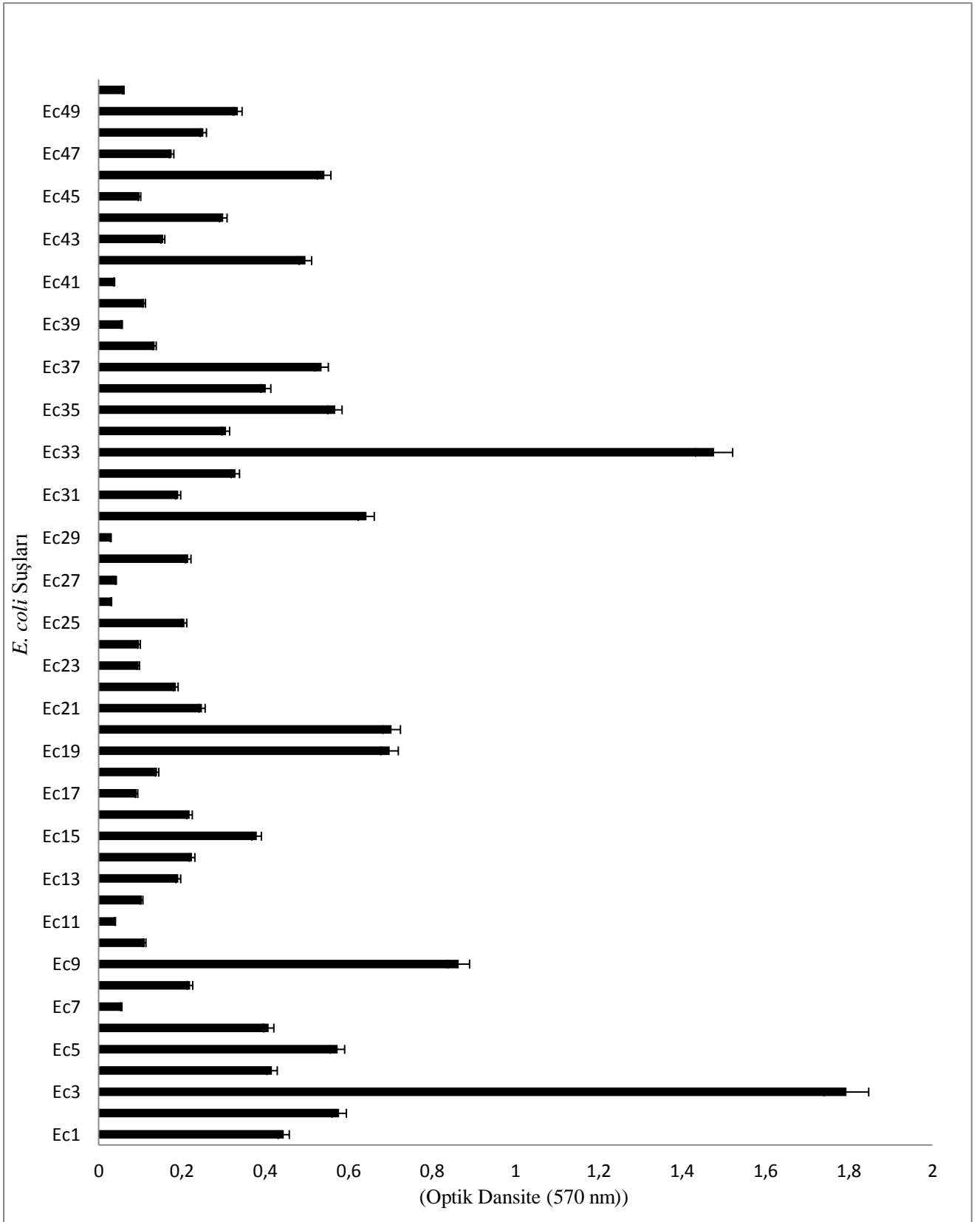
2010 yılında yapılan diğer bir araştırmada mikroorganizmalar tarafından kataterler üzerinde oluşturulan biyofilm tabakasının enfeksiyon oluşumunda önemli rol oynadığı ve enfeksiyon gelişimini artırdığı belirtilmektedir [151].

Çalışmamızdaki tüm *E. coli* suşları arasından en yüksek oranda biyofilm oluşumu gözlenen Ec3 suşunun Genel Cerrahi Ünitesinde yatmakta olan 72 yaşındaki kadın bir hastanın yara klinik materyalinden izole edildiği gözlemlendi (Çizelge 4.2., Çizelge 4.3.).

Ec3 suşuna bakıldığında, hastanın yaşlı bir hasta olması, bu yaşlardaki hastalarda vücut direncinin düşük olması ve örneğin yara materyalinden elde edilmiş olması göz önüne alındığında, mikroorganizmaların biyofilm oluşumu için vücutta uygun ortam sağladıkları söylenebilir.

**Çizelge 4.2** *E. coli* Suşlarında Biyofilm Sınıfları

<b>Biyofilm Sınıfı</b>	<b>Suş Yüzdesi (%)</b>	<b><i>E. coli</i> Suşları</b>	<b>OD (570 nm)</b>	<b>Biyofilm Oluşum Oranı</b>
BF Tip 1	4	Ec 3, Ec 33	1.0 ve üzeri	++++
BF Tip 2	4	Ec 20, Ec9	0.7 – 1.0	+++
BF Tip 3	24	Ec (1, 2, 4, 5, 6, 19, 30, 35, 36, 37, 42, 46)	0.4 – 0.7	++
BF Tip 4	44	Ec (8, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22, 25, 28, 31, 32, 34, 38, 40, 43, 44, 47, 48, 49)	0.1 – 0.4	+
BF Tip 5	24	Ec (7, 11, 17, 23, 24, 26, 27, 29, 39, 41, 45, 50)	0 – 0.1	-



Şekil 4.7. *E. coli* Suşlarında Biyofilm Oluşumu

\*Biyofilm Oluşumu Bölüm 3.8.2’de açıklandığı şekilde belirlendi.

\*\*Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

#### 4.9 *E. coli* Suşlarının Biyofilm Oluşturmaları ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması

Biyofilm tabakası oluşturan mikroorganizmalar daha önce belirtildiği gibi ekstraselüler polimerik materyaller ile birbirlerine ve buldukları yüzeye tutunarak koloni oluştururlar ve oluşturulan koloniler halinde yaşamlarını sürdürerek çoğalırlar. Ayrıca mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilm tabakası, mikroorganizmaları fagositoza, osmotik strese, dezenfektanlara, toksik bileşenlere, nem, sıcaklık, pH değişikliklerine, UV ışınlarının zararlı etkilerine ve antimikrobiyal ajanlara karşı da koruma sağlar [7], [152].

Mikroorganizma topluluklarındaki besin maddelerinin depolanmasının sağlanması da mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilm tabakasının diğer avantajlarından [57].

Biyofilm tabakası içerisinde bulunan mikroorganizmalar planktonik yaşayan formdaki eşdeğerlerine göre olumsuz koşullara karşı 10 ila 100 kat daha dirençlidirler [44], [85].

Biyofilm tabakası antimikrobiyal ajanların mikroorganizma kolonisi içerisine girişini ve hücrelere ulaşmasını engellemektedir. Bu bağlamda biyofilm tabakası içinde gömülü halde bulunan mikroorganizmaların, yüzeydeki mikroorganizmalara kıyasla antibiyotik dirençliliklerinde artış gözlenebilmektedir [55], [84], [123].

**Çizelge 4.3.** *E. coli* Suşlarında Antibiyotik Dirençliliği ve Biyofilm Oluşumunun Karşılaştırılması

<i>E.coli</i> Suşları	Biyofilm Sınıfı	Biyofilm oluşumu	Direnç Gözlenen Antibiyotikler	Direnç Gözlenen Antibiyotik Sayısı
Ec1	BF Tip 4	++	-	0
Ec2	BF Tip 4	++	CZ, SCF	2
Ec3	BF Tip1	+++++	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX, CIP, TZP, SXT	8
Ec4	BF Tip 4	++	-	0
Ec5	BF Tip 4	++	-	0
Ec6	BF Tip 4	++	-	0

**Çizelge 4.3.** *E. coli* Suşlarında Antibiyotik Dirençliliği ve Biyofilm Oluşumunun Karşılaştırılması (devam)

<i>E.coli</i> Suşları	Biyofilm Sınıfı	Biyofilm oluşumu	Direnç Gözlenen Antibiyotikler	Direnç Gözlenen Antibiyotik Sayısı
Ec7	BF Tip 6	-	-	0
Ec8	BF Tip 5	+	-	0
Ec9	BF Tip 3	+++	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX, CIP, CN	7
Ec10	BF Tip 5	+	SAM	1
Ec11	BF Tip 6	-	-	0
Ec12	BF Tip 5	+	CIP, CN	2
Ec13	BF Tip 5	+	SXT	1
Ec14	BF Tip 5	+	-	0
Ec15	BF Tip 5	+	-	0
Ec16	BF Tip 5	+	-	0
Ec17	BF Tip 6	-	-	0
Ec18	BF Tip 5	+	-	0
Ec19	BF Tip 4	++	SAM	1
Ec20	BF Tip 3	+++	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX, CIP, CN, TZP	8
Ec21	BF Tip5	+	-	0
Ec22	BF Tip 5	+	-	0
Ec23	BF Tip 6	-	-	0
Ec24	BF Tip 6	-	-	0
Ec25	BF Tip 5	+	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX	5
Ec26	BF Tip 6	-	-	0



**Çizelge 4.3.** *E. coli* Suşlarında Antibiyotik Dirençliliği ve Biyofilm Oluşumunun Karşılaştırılması (devam)

<i>E.coli</i> Suşları	Biyofilm Sınıfı	Biyofilm oluşumu	Direnç Gözlenen Antibiyotikler	Direnç Gözlenen Antibiyotik Sayısı
Ec27	BF Tip 6	-	-	0
Ec28	BF Tip 5	+	-	0
Ec29	BF Tip 6	-	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX, TZP	6
Ec30	BF Tip 4	++	SXT	1
Ec31	BF Tip 5	+	-	0
Ec32	BF Tip 5	+	-	0
Ec33	BF Tip1	+++++	-	0
Ec34	BF Tip 5	+	SXT	1
Ec35	BF Tip 4	++	SAM	1
Ec36	BF Tip 4	++	SAM, CZ, TZP, SXT	4
Ec37	BF Tip 4	++	CIP, CN, SXT	3
Ec38	BF Tip 5	+	-	0
Ec39	BF Tip 6	-	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX, TZP, SXT	7
Ec40	BF Tip 5	+	-	0
Ec41	BF Tip 6	-	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX, CIP, CN	7
Ec42	BF Tip 4	++	-	0
Ec43	BF Tip 5	+	CZ, FEP, SCF, FOX, CIP, CN, TZP	7
Ec44	BF Tip 5	+	-	0
Ec45	BF Tip 6	-	-	0
Ec46	BF Tip 4	++	SAM, TZP, SXT	3

**Çizelge 4.3.** *E. coli* Suşlarında Antibiyotik Dirençliliği ve Biyofilm Oluşumunun Karşılaştırılması (devam)

<i>E.coli</i> Suşları	Biyofilm Sınıfı	Biyofilm oluşumu	Direnç Gözlenen Antibiyotikler	Direnç Gözlenen Antibiyotik Sayısı
Ec47	BF Tip 5	+	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX, TZP, SXT	7
Ec48	BF Tip 5	+	-	0
Ec49	BF Tip 5	+	SAM, CZ, FEP, SCF, FOX, TZP	6
Ec50	BF Tip 6	-	-	0

AK: Amikasin, SAM: Ampisilin-Sulbaktam, CZ: Sefazolin, FEP: Sefepim, SCF: Sefoperazon-Sulbaktam, FOX: Sefoksitin, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, CN: Gentamisin, IPM: İmipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin-Tazobaktam, SXT: Trimetropim- Sulfometoksazol

Çalışmamızda *E. coli* suşlarının biyofilm oluşturma oranları ile antibiyotik dirençlilikleri karşılaştırıldı. (Çizelge 4.3) Biyofilm oluşumunun en çok gözlemlendiği iki suştan biri olan BF Tip1 grubundaki Ec3 suşunun 13 antibiyotikten 8 tanesine karşı direnç gösterdiği bulundu. (Çizelge 4.3.).

BF Tip2 Biyofilm grubundaki Ec9 suşunda 13 antibiyotikten 7'sine; Ec20 suşunda ise 13 antibiyotikten 8'ine direnç geliştirdiği gözlemlendi. (Çizelge 4.3.). Ec20 suşu Kardiyoloji Servisinde yatan 84 yaşındaki erkek hastanın bronkoskobik lavaj klinik materyalinden izole edilmiştir. Ec9 suşu ise nöroşirürşi servisinde yatmakta olan 83 yaşındaki erkek hastanın idrar örneğinden izole edilmiştir. Bu iki örnek, konakların yaşlarının artışı ile mikroorganizmaların biyofilm oluşturma yeteneğindeki artışı göstermesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu örneklerin haricinde en yüksek biyofilm oluşumunun gözlemlendiği BF Tip1 grubunda bulunan Ec33 suşunda biyofilm oluşumu gözlenmesine karşın antibiyotik dirençliliklerinde 13 farklı antibiyotikten hiçbir antibiyotiğe karşı direnç gelişimi olmadığı saptanmıştır. Bu örnek 30 yaşlarında idrar yolu şikayeti ile üroloji servisine başvurmuş ayaktan tedavi edilen bir kadın hastanın idrar klinik materyalinden izole edilmiştir. Söz konusu kişiden izole edilen *E. coli* suşunda biyofilm oluşumunun yüksek oranda gözlenmesine rağmen hiçbir antibiyotiğe direnç göstermemesinin en büyük nedenleri arasında biyofilm

tabakasının çok katmanlı olmasının oluşturduğu heterojen yapılaşma ve biyofilm tabakası içerisindeki bu heterojen yapılaşmanın antibiyotik duyarlılıklarında oluşturduğu farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Bu farklılık ise biyofilm tabakasının üst katmanlarındaki mikroorganizmaların, biyofilmin iç kısımlarındaki mikroorganizma topluluklarına göre antimikrobiyal ajanlara karşı daha duyarlı olmasından kaynaklanabilmektedir [128].

Ec 39 ve Ec 41 suşlarının her ikisi de idrar klinik materyalinden izole edilmiştir ve bu suşlar, çalışmada kullanılan 13 antibiyotikten 7 antibiyotiğe karşı direnç gelişimi göstermektedirler. Bunun yanı sıra biyofilm oluşumu ise en az oranda gözlemlenmiştir. Antibiyotik dirençliliği gözlenen suşlarda direnç oluşumundaki etkenlerden biri biyofilm oluşturmalarıdır [128]. Kişilerin bilinçsiz antibiyotik kullanımı, antibiyotik kullanımında kısıtlamaların olmaması, antibiyogram testlerinin yapılmaksızın antibiyotik kullanımının ülkemizde oldukça yaygın olması gibi birçok faktör antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların varlığını ve yayılımını günden güne arttırmaktadır [90].

Bunun yanında *E. coli* ile yapılan bir araştırmada flagellası olmayan veya flagellası paralize olmuş mutant *E. coli* suşlarında polivinilklorid (PVC) yüzeylere bağlanmanın büyük oranda gerçekleştirilemediği saptanmıştır [64]. Tüm bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda *E. coli* suşlarının bazılarında yüksek antibiyotik direnci gözlenmesine rağmen biyofilm oluşumunun gözlenememesi bizim çalışmamızın sonucunu destekler niteliktedir.

Biyofilm tabakasının oluşumu ile mikroorganizmaların antibiyotik dirençliliklerinin farklılaşmasına birçok unsur etki etmektedir. Bu unsurlardan başlıcaları şunlardır [153].

Biyofilm yapısı içerisindeki ekzopolisakkarit tabakasının üst katmanlarının bariyer görevi üstlenerek, kullanılan antibiyotiğin biyofilm tabakasının iç kısmında bulunan mikroorganizmalara difüzyonunu zorlaştırdığı ve böylece biyofilm tabakasının iç kısmındaki mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı korunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [128], [153]. Yeterli antibiyotik konsantrasyonunun hücrelere geçişini engelleyen biyofilm tabakası antibiyotikleri bu şekilde etkisiz hale getirebilmektedir. Böylece mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı dirençli özellik göstermektedirler.

Biyofilm tabakası içerisindeki mikroorganizmalarda dirençli genlerin gen alışverişi yoluyla değişimi ve böylece serbest yaşayan eşdeğerlerine oranla çok daha dirençli mikroorganizma çeşitlerinin oluşumu söz konusu olmaktadır [154].

Biyofilm oluşumunda belirtilen unsurlar bir araya gelerek veya ayrı ayrı antibiyotik dirençliliğinde etki gösterebilmektedirler. Bu unsurlardan her biri mikroorganizmanın antimikrobiyal ajanlara karşı olan dirençliliğini farklı etkilemektedir [155], [156], [157].

Sonuç olarak;

Çalışmamız kapsamında kullanılan *E. coli* suşlarının en yüksek oranda teşhis edildikleri servisin Acil Servis olduğu ve en yüksek oranda izole edildikleri klinik materyalin ise idrar klinik materyali olduğu belirlendi. Çalışmamızda yaş aralığı olarak 31-45 yaş aralığındaki kadın hastalarda en yüksek oranda *E. coli* izolasyonu gerçekleştirildiği saptandı. *E. coli* suşlarının Amikasin, Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam, Sefoksitin, Siprofloksasin, Ertapenem, Gentamisin, İmipenem, Meropenem, Piperasilin-Tazobaktam, Trimetropim-Sulfometoksazol antibiyotiklerine karşı antibiyotik dirençlilikleri araştırıldı.

Biyofilm oluşum değerlerine göre 5 farklı biyofilm grubu tanımlandı ve suşlar bu gruplara dahil edildi. Yüksek oranda biyofilm oluşumu gözlenen suşlardan biri olan Ec3 suşunun Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam, Sefoksitin, Siprofloksasin, Piperasilin-Tazobaktam, ve Trimetropim-Sulfometoksazol antibiyotiklerine karşı direnç gelişimi gösterdiği saptandı. Bu suş Genel Cerrahi Servisinde yatan bir hastanın yara klinik materyalinden izole edilmiştir.

Yüksek oranda biyofilm oluşumu gözlenen suşlardan bir diğeri olan Ec 33 suşunda ise çalışmamızda kullanılan antibiyotiklerden hiçbirine karşı direnç gelişimi gözlenmediği saptandı. Bu suş Üroloji Servisine başvuran bir hastanın idrar klinik materyalinden izole edilmiştir.

Biyofilm oluşumunun en az oranda gözleendiği saptanan Ec 39 ve Ec 41 suşlarının her ikisinin de çalışmada kullanılan Ampisilin-Sulbaktam, Sefazolin, Sefepim, Sefoperazon-Sulbaktam ve Sefoksitin antibiyotiklerine karşı direnç geliştirdiği saptandı. Ec 39 suşunda belirtilen antibiyotikler dışında Piperasilin-Tazobaktam, ve Trimetropim-Sulfometoksazol antibiyotik kombinasyonlarına; Ec 41 suşunda ise Siprofloksasin ve Gentamisin antibiyotiklerine karşı da direnç gelişimi saptandı. Ec 39 suşu Çocuk Sağlığı ve

Hastalıkları Servisine başvuran hastanın idrar klinik materyalinden, Ec 41 suşu ise Acil Servise başvuran hastanın idrar klinik materyalinden izole edilmiştir.

Mikroorganizmaların biyofilm oluşturmalarıyla geliştirdikleri antibiyotik direnç mekanizmaları çok çeşitlidir. Biyofilm tabakasında asidik atık maddelerden dolayı ortam pH'sının değişmesi, biyofilm tabakasındaki mikroorganizmaların oksijen kullanımına bağlı olarak tabaka içerisindeki ve yüzeyindeki oksijen yoğunluğunda oluşan farklılıklar ve besin maddelerinin kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan besin kısıtlanması gibi birçok durum biyofilm tabakasının antibiyotik dirençliliğinde oluşturduğu farklılıklarda rol oynayan unsurlardan bazılarıdır ve bu konu hakkında yapılan çalışmalar hızla devam etmektedir.

İnsan sağlığı için tehdit unsuru oluşturan biyofilmlerle savaşmak ve onları tehdit unsuru olmaktan çıkarmak biyofilmlerle mücadele yöntemlerinin geliştirilmesinde ve geliştirilecek bu yöntemlerin gerek tıp gerekse endüstri ve tarımsal alanlarda uygulanmasında önem arz etmektedir. Biyofilm tabakasının önüne geçilmesini sağlamak amacıyla biyofilm oluşumunun engellenmesini sağlayacak sinyallerin ve sinyal moleküllerinin kullanımı; olgunlaşmış biyofilm tabakasının yok edilmesini sağlamak amacıyla da biyofilmin parçalanmasını sağlayan mekanik güçlerin veya fiziksel ve kimyasal maddelerin kullanımını gelecek yıllarda daha da önemli hale gelecek ve tartışılacaktır.

## KAYNAKLAR

- [1] Taşdemir, C., *Toplum ve Hastane Kaynaklı İnfeksiyonlardan İzole Edilen Escherichia coli Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Fenotiplerinin Araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, **2009**.
- [2] Fidan I., Yüksel S., Sipahi A. B., Özkan S., Sultan N., Üriner Sistem İnfeksiyonlarından Etken Olarak İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Hemaglutinasyon ve Hemolizin Üretimi, *Antibiyotik ve Kemoterapi Dergisi*, 20(1), 22-25, **2006**.
- [3] Yılmaz, M., Çelik, G. Y., Bakteriyel Ekstraselüler Polisakkaritler (EPS), *International Journal of Food Science and Technology, Or-Lab Online Mikrobiyoloji Dergisi*, [www.mikrobiyoloji.org/pdf/702070202.pdf](http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702070202.pdf), 05, 2, 7-13, **2007**.
- [4] Lewis, K., Riddle of Biofilm Resistance, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(4), 999-1007, **2001**.
- [5] Parsek, M. R., Emerging Themes and Challenges in Studies of Surface-Associated Microbial Life, *Journal of Bacteriology*, 14, 4427-40, **2003**.
- [6] Donlan, R. M., Biofilms and Device-Associated Infections, *Emerging Infectious Disease* 81-277, **2001**.
- [7] Post, J. C., Stoodley P., Hall-Stoodley L., Ehrlich G. D., The Role of Biofilms in Otolaryngologic Infections, *Current Opinion Otolaryngologic Head Neck Surgery Review*, June 12(3), 185-90, **2004**.
- [8] Donlan, R. M., Costerton, J. W., Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms, *Clinical Mikrobiyoloji Dergisi*, 15(2), 167-193, **2002**.
- [9] Hallam, N. B., West, J. R., Forster, C. F., Simms, J., The Potential for Biofilm Growth in Water Distribution Systems, *Water Resistant*, 35, 4063-4071, **2001**.
- [10] Unat, E. K., *Escherichia coli*. In: Unat E. K. *Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi*, Cilt 1, 2. Baskı, Dergah Tıp Yayınları, İstanbul, 546, **1986**.
- [11] Baştürk, S., *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa ve Acinetobacter baumannii Suşlarında Çeşitli Kinolon 49 Grubu Antibiyotiklerin*

- Duyarluluklarının Araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, **2005**.
- [12] Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A., *Medical Microbiology: Enterobacteriaceae*, 5<sup>th</sup> Edition, Elsevier Mosby, Philadelphia, 323-338, **2005**.
- [13] Tünger, A., *Asya Mikrobiyoloji: Bakteriyoloji, Viroloji, Mikoloji, Parazitoloji, İmmünoloji*, Asya Tıp Kitabevi, İzmir, 649s, **2005**.
- [14] Ustaçelebi, Ş., *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 1. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara **1999**.
- [15] *Escherichia coli* SEM Images, <http://commtechlab.msu.edu/sites/dlc-me/zoo/Pf07002.jpg> (Ağustos, **2014**).
- [16] Arslan, S., *Gastroenteritli Hastalarda Enterohemorajik Escherichia coli Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, **1993**.
- [17] Photos of bacteria, <http://faculty.lacitycollege.edu/hicksdr/3emb.jpg> (Ağustos, **2014**).
- [18] Centers for disease Control and Prevention, *E. coli* Blood Plate, [http://blogs.cdc.gov/publichealthmatters/files/2009/10/ecoli\\_blood\\_plate.jpg](http://blogs.cdc.gov/publichealthmatters/files/2009/10/ecoli_blood_plate.jpg) (Ağustos, **2014**).
- [19] Bilgehan, H., *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, 3. Basım, Barış Yayınları, İzmir, **2002**.
- [20] Çotuk, A., *Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 138s, **2003**.
- [21] Naylor, S. W., Gally, D. L., Low, J. C., Enterohaemorrhagic *E. coli* in Veterinary Medicine, *International Journal of Medical Microbiology*, 295, 419-441, **2005**.
- [22] Salyers, A. A., Whitt, D. D., *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*, ASM Press, 1<sup>th</sup> edition, Washington DC, **1994**.
- [23] Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. T., Pathogenic Schema of Diarrhoeagenic *E. coli*, *Nature Reviews Microbiology*, 2, 123-140, **2004**.

- [24] Nicole, L. E., Epidemiology of Urinary Tract Infection, *Infections in Medicine*, 18, 153-162, **2001**.
- [25] Stamm, W. E., Stapleton, A. E., Approach to the Patient with Urinary Tract Infections, In: Gorbach, S. L., Barlett, J. G., Blacklow, N. R., eds., *Infectious Diseases*, 3<sup>rd</sup> Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 861-871, **2004**.
- [26] Brooks, G. F., Butel, J. S., Morse, S. A., *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology*, 23. Basım, Mc Graw Hill, North America, **2004**.
- [27] Aaçfidan, A., *Tıbbi Mikrobiyoloji 2*, (ed: Bozkaya, E.), Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 536s, **2005**.
- [28] Strohl, W. A., Rouse, H., Lippincott, F., *Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology*, Williams & Wilkins, Baltimore, **2001**.
- [29] Levinson, W., *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*, (çev: Özgüven T.), 9. Basım, Güneş Tıp Kitabevleri, İstanbul, **2008**.
- [30] Donnenberg, M. S., Enterobacteriaceae. In: Mandell, G. L., Bennett, J. E., Dolin, R., eds., *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practise of Infectious Diseases*, 6<sup>th</sup> edition, Churchill Livinstone, Philadelphia, 2567-2587, **2005**.
- [31] Tunçkanat, F., Üriner Sistem Enfeksiyonu Patogenezinde Bakteriyel Virülans Faktörleri, *Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 6(1), 3-5, **1993**.
- [32] Emody, L., Kerenyi, M., Nagi, G., Virulence Factors of Uropathogenic *Escherichia coli*, *International Journal of Antimicrobial Agent*, 22, 29-33, **2003**.
- [33] Connell, H., Agace, W., Klemm, P., Schembri, M., Marild S., Svanborg, C., Type 1 Fimbrial Expression Enhances *Escherichia coli* Virulence for the Urinary Tract, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 93, 9827-9832, **1996**.
- [34] Töreci, K., *Escherichia Türleri*, (eds: Topçu, W. A., Söyletir, G., Doğanay, M.,) *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, Cilt 2, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 1564-1574, **2002**.
- [35] Küçükbasmacı, Ö., Barol, B. Ö., Öğüt, T., Susever, S., Küçüker M. A., Anđ Ö., *Escherichia coli* Suşlarında Çeşitli Antibiyotiklere Direncin Hemolizin Üretimi ve Tipleri ile İlişkisi, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 33(3), 211-213, **2003**.



- [36] Demir, M., *Patojen Escherichia coli Suşlarında Siderofor ve Diğer Virulans Faktörlerinin Araştırılması ve Patojenitedeki Rollerinin Cilt Enfeksiyon Modeliyle Gösterilmesi*, Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, **2001**.
- [37] Erdoğan, F., *Çocukluk Çağında Üriner Sistem Enfeksiyonları ve Eşlik Eden Hastalıklar*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, **2005**.
- [38] Vagarali, M. A., Karadesai, S. G., Patil, C. S., Metgud, S. C., Mutnal, M. B., Hemagglutination and Siderophore Production as the Urovirulence Markers of Uropathogenic *Escherichia coli*, *Indian Journal of Medical Microbiology*, 26(1), 68-70, **2008**.
- [39] Gün, İ, İkinci, F. Y., Biyo-filmler: Yüzeylelerdeki Mikrobiyal Yaşam, *Gıda Review*, 34(3), 165-173, **2009**.
- [40] Cicalini, S., Palmieri, F., Petrosillo, N., New Technologies for Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections, *Critical Care Clinical Review*, 8(3), 157-62, **2004**.
- [41] Donlan, R. M., Biofilms: Microbial Life on Surfaces, *Emerging Infectious Diseases Journal*, 8, 881-890, **2002**.
- [42] Pantanella, F., Valenti, P., Frioni, A., Natalizi, T., Biotimer Assay, A New Method for Counting *Staphylococcus spp.* in Biofilm without Sample Manipulation Applied to Evaluate Antibiotic Susceptibility of Biofilm, *Journal of Microbiological Methods*, 78, 478-484, **2008**.
- [43] Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., Stoodley, P., Bacterial Biofilms: From the Natural Environment to Infectious Diseases, *Nature Reviews Microbiology*, 2, 95-108, **2004**.
- [44] Costerton, J. W., Geesey, G .G., and Cheng, K. J., How Bacteria Stick, *Scientific American*, 238, 86-95, **1978**.
- [45] Williams, M. M., Yakus, M. A., Arduino, M. J., et al., Structural Analysis of Biofilm Formation by Rapidly and Slowly Growing Nontuberculous Mycobacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7), 2091-2098, **2009**.

- [46] Marshall, *Interfaces in Microbial Ecology*, 44-47, **1976**.
- [47] Perez, E., Williams, M., Jacob, J. T., et al., Microbial Biofilms on Needleless Connectors for Central Venous Catheters: Comparison of Standard and Silver-Coated Devices Collected from Patients in an Acute Care Hospital, (ed: Patel, R.,) *Journal of Clinical Microbiology*, 52(3), 823-831, **2014**.
- [48] Allison, D. G., The Biofilm Matrix, *Journal of Biofouling*, 19 (2), 139-150, **2003**.
- [49] Padera, R. F., Infection in Ventricular Assist Devices: The Role of Biofilm, *Cardiovascular Pathology*, 15, 264–270, **2006**.
- [50] Kumar, C. G., Anand, S. K., Significance of Microbial Biofilms in Food Industry: A Review, *International Journal of Food Microbiology*, 42, 9–27, **1998**.
- [51] Hussain, M., Wilcox, M. H., White, P. J., The Slime of Coagulase Negative Staphylococci: Biochemistry and Relation to Adherence, *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Journal*, 10, 191-207, **1993**.
- [52] Sutherland, I., Biofilm Exopolysaccharides: A Strong and Sticky Framework, *Microbiology*, 147, 3-9, **2001**.
- [53] Douglas, L., J., *Candida* Biofilms and Their Role in Infection, *Trends Microbiology*, 11, 30-36, **2003**.
- [54] Whiteley, M., Banger, M. G., Bumgarner, R. E., Parsek, M. R., Teitzel, G. M., Lory, S., and Greenberg, E. P., *Nature*, 413, 860-64, **2001**.
- [55] Hoyle, B. D., Costerton, J. W., Bacterial Resistance to Antibiotics: The Role of Biofilms, *Progress in Drug Research*, 37, 91-105, **1991**.
- [56] O'Toole, G., Kaplan, H. B., Kolter, R., Biofilm Formation as Microbial Development, *Annual Review of Microbiology*, 54, 49-79, **2000**.
- [57] Çiftçi, Z., *Kronik Tonsillitte Biyofilmin Rolü*, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 30, **2005**.
- [58] Introduction to Biofilms, An Introduction to the Biofilm Life Cycle, [http://www.coe.montana.edu/biofilmbook/MODULE\\_01/Mod01\\_Grn/Mod01\\_S01\\_Grn.htm](http://www.coe.montana.edu/biofilmbook/MODULE_01/Mod01_Grn/Mod01_S01_Grn.htm) (Ocak, **2014**).

- [59] Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R. and Lappin-Scott, H. M., Microbial Biofilms, *Annual Review of Microbiology* 49, 711-45, **1995**.
- [60] Poulsen, L. V., Microbial Biofilm in Food Processing, *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*., 32 (6), 321-326, **1999**.
- [61] Lindsay, D., Von Holy, A., Bacterial Biofilms within the Clinical Setting: What Healthcare Professionals Should Know, *Journal of Hospital Infection*, 1-13, **2006**.
- [62] Carpentier, B. and Cerf, O., *Journal of Applied Bacteriology*, 75, 499-511, **1993**.
- [63] An, Y. H., Dickson, R. B., Doyle, R.J., *In Handbook of Bacterial Adhesion: Principles, Methods, and Applications*, (eds: An, Y. H., Freidman, R.J.), Human Press, Totowa N. J., 1-27, **2000**.
- [64] Pratt, L. A., Kolter, R., Genetic Analysis of *E. coli* Biofilm Formation; Roles of Flagella, Motility, Chemotaxis and Type I Pili, *Molecular Microbiology*, 30, 285-293, **1998**.
- [65] Danese P. N, Pratt, L. A and Kolter, R., Exopolysaccharide Production is Required for Development of *Escherichia coli* K-12 Biofilm Architecture, *Journal of Bacteriology*, 182, 3593-6, **2000**.
- [66] Öner, Z., Ölmez Z., Süt Sanayisinde Biyofilm Oluşumu ve Önleme Yöntemleri, *Hasad Gıda*, 22, 256, 56-60, **2006**.
- [67] Wolz, C., Goerke, C., Landmann, R., Zimmerli, W., and Fluckiger, U., *Infection and Immunity* 70, 2758-62, **2002**.
- [68] Bacterial Slime Cities, [http://cronodon.com/BioTech/Bacterial\\_Society.html](http://cronodon.com/BioTech/Bacterial_Society.html) (Ocak, **2015**).
- [69] Camara M., *Quorum Sensing: A Cell-Cell Signalling Mechanism Used to Coordinate Behavioural Changes in Bacterial Populations*, <http://wmc7.liacs.nl/procee-dings/WMC7Camara.pdf>, **2007**.

- [70] Nealson, K. H., Platt, T., Hastings, J. W., Cellular Control of the Synthesis and Activity of the Bacterial Luminescence System, *Journal of Bacteriology*, 104, 303-322, **1970**.
- [71] Eberhard A, Widrig C. A., McBath, P., Schineller, J. B., Analogs of the Autoinducer of Bioluminescence in *Vibrio fischeri*, *Journal of Bacteriology*, 146(1), 35-40, **1986**.
- [72] Williams P., Quorum Sensing *International Journal of Medical Microbiology*, 296, 57-9, **2006**.
- [73] Novick R. P., Muir, W. M., Virulence Gene Regulation by Peptides in *Staphylococci* and Other Gram-Positive Bacteria, *Current Opinion in Microbiology*, 2, 40-45, **1999**.
- [74] Donabedian H., Quorum Sensing and Its Relevance to Infectious Diseases, *Journal of Infection*, 46, 207-214, **2003**.
- [75] Quorum Sensing Mechanisms, Bacterial Autoinduction, <https://www.bio.cmu.edu/courses/03441/TermPapers/99TermPapers/Quorum/autoinduction2.gif> (May15, **2014**).
- [76] Parsek, M. R., Greenberg, E. P., Acyl-Homoserine Lactone Quorum Sensing in Gram-Negative Bacteria: A Signaling Mechanism Involved in Associations with Higher Organisms, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 97, 8789-93, **2000**.
- [77] Parsek, M. R., Greenberg, E. P., Sociomicrobiology: the Connections between Quorum Sensing and Biofilms, *Trends Microbiology*, 13, 27-33, **2005**.
- [78] Quorum Sensing Molecules, [http://qsknowthyneighbor.blogspot.com.tr/2012\\_04\\_01\\_archive.html](http://qsknowthyneighbor.blogspot.com.tr/2012_04_01_archive.html) (Ekim, **2014**)
- [79] Federle, M. J., Bassler, B. L., Interspecies Communication in Bacteria, *Journal of Clinical Investigation*, 112, 1291-9, **2003**.
- [80] Spoering, A. L., Gilmore, M. S., Quorum Sensing and DNA Release in Bacterial Biofilms, *Current Opinion in Microbiology*, 9, 133-7, **2006**.

- [81] Lazazzera, B. A., Grossman, A. D., The Ins and Outs of Peptide Signaling, *Trends Microbiology*, 6, 288-94, **1998**.
- [82] Ahmer, B. M. M., Cell-to-Cell Signalling in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*, *Molecular Microbiology*, 52, 933-945, **2004**.
- [83] Davies, D. G., Physiological Events in Biofilm Formation, (eds: Allison, D., Gilbert, P., Lappin-Scott, M., Wilson, M.), *Community Structure and Cooperation in Biofilms*, 37-51, **2000**.
- [84] Cloete, T. E., Resistance Mechanisms of Bacteria to Antimicrobial Compounds, *International Biodeterioration & Biodegradation Journal*, 51, 277 – 282, **2003**.
- [85] Zarin, J. S., Noble, A. R., Fitz, W., Complications after Total Knee Arthroplasty, (eds: Berry, D. J., Steinmann, S. P., Tornetta, P., Einhorn, T. A.) *Adult Reconstruction*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 177, **2007**.
- [86] Broderick, A. H., Breitbach, A. S., Frei, R., Blackwell, H. E., Lynn, D. M., Surface-Mediated Release of a Small-Molecule Modulator of Bacterial Biofilm Formation: A Non-Bactericidal Approach to Inhibiting Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa*, *Advanced Healthcare Materials*, 2(7), 993-1000, **2013**.
- [87] Fu, W., Forster, T., Mayer, O., Curtin, J. J., Lehman, S. M., Donlan, R. M., Bacteriophage Cocktail for the Prevention of Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa* on Catheters in an *in vitro* Model System, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), 397-404, **2010**.
- [88] Chenier, M. R., Beaumier, D., Roy, R., Driscoll, B. T., Lawrence, Jr., Greer, C. W., Impact of Seasonal Variations and Nutrient Inputs on Nitrogen Cycling and Degradation of Hexadecate by Replicated River Biofilms, *Applied and Environmental Microbiology*, Sep, 69 (9), 5170-7, **2003**.
- [89] Akond, M. A., Hassan, S. M. R., Alam, S., Shirin, M., Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Poultry and Poultry Environment of Bangladesh, *American Journal of Environmental Sciences*, 5, 47-52, **2009**.
- [90] Antibiyotikler, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Antibiyotik>, (Ekim, **2014**).

- [91] Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Seventeenth Informational Supplement, <http://www.microbiolab-bg.com/CLSI.pdf> (Aralık, 2014).
- [92] Basic Mechanisms of Antibiotic Action and Resistance, <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/Chemotherapy/AntibioticMechanisms.htm> (Aralık, 2014).
- [93] Edson, R. S., Terrell, C. L., The Aminoglycosides, *Mayo Clinic Proceedings Review*, May 74(5), 519-28, 1999.
- [94] Adnan, S., Paterson, D. L., Lipman, J., Roberts, J. A., Ampicillin/Sulbactam: Its Potential Use in Treating Infections in Critically Ill patients, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 42 (5), 384–389, 2013.
- [95] Infectious Disease, Antimicrobial Agents, Cefazolin, <http://www.antimicrobe.org/drugpopup/Cefazolin.pdf> (Aralık, 2014).
- [96] Yahav, D., Paul, M., Fraser, A., Sarid, N., Leibovici, L., Efficacy and Safety of Cefepime: A Systematic Review and Meta-Analysis, *The Lancet Infectious Diseases*, 7 (5), 338–48, 2007.
- [97] Chandra, A., et al., Cefoperazone-Sulbactam for Treatment of Intra-Abdominal Infections: Results from a Randomized, Parallel Group Study in India, *Surgical Infections*, 9, 3 – 367, 2008.
- [98] Phillips, I., Shannon, K., Importance of Beta-Lactamase Induction, *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, 12 Supp 1, 19–26, 1993.
- [99] Baum, H. V., Franz, U., and Geiss, H. K., Prevalence of Ciprofloxacin-Resistant *Escherichia coli* in Hematologic-Oncologic Patients, *Infection*, 28, 278-281, 2000.
- [100] Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., Bonomo, R. A., Carbapenems: Past, Present, and Future, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(11), 4943–60, 2011.
- [101] Sedighi, M., Salehi-Abargouei, A., Oryan, G., Faghri, J., Epidemiology of VIM-1-Imipenem Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis, *Journal of Research in Medical Sciences, The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 19(9), 899-903, 2014.

- [102] Yeung, E. Y. H., Gore, J. G., Auersperg, E. V., A Retrospective Analysis of the Incidence of *Clostridium difficile* Associated Diarrhea with Meropenem and Piperacillin-Tazobactam, *International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health* 4(8), 1567–1576, **2012**.
- [103] Antibiyotiklerin Sınıflandırılmaları, <http://www.dicle.edu.tr/Contents/d114e2c9-7c14-4e01-a410-2dda77d449cd.pdf> (Aralık, **2014**).
- [104] Klinik Mikrobiyoloji, Petri Besiyerleri, [http://www.gbl.com.tr/urunler/petri\\_besiyerleri/koyun-kanli-agar-emb-agar-levine.html](http://www.gbl.com.tr/urunler/petri_besiyerleri/koyun-kanli-agar-emb-agar-levine.html) (Aralık, **2014**).
- [105] Arda, M., *Temel Mikrobiyoloji*, 2.Baskı, Medisan Yayın, Ankara, **2000**.
- [106] Halkman, A. K., Doğan, H. B., Noveir, M. R., *Gıda Maddelerinde Salmonella ve E. coli Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması*, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu, 92 11 12 01 Nolu Projenin Kesin Raporu, 93s, 1994.
- [107] Images of Bacteria, Bacteria in Photos, <http://www.bacteriainphotos.com/agar%20cultivation%20media.html> (Ekim, **2014**).
- [108] Abbasoğlu, U., Özçelik, B., Özkan, S., Kurtuluş Ülküer, M., Kaynak, F., *Farmasötik Mikrobiyoloji Uygulama Kitabı*, THK Basımevi, Ankara, **2005**.
- [109] Gram Stain images, [http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/labs/microbiology/gram\\_stain/Gram\\_stain\\_images/index\\_gram\\_stain\\_images.html](http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/labs/microbiology/gram_stain/Gram_stain_images/index_gram_stain_images.html) (Ekim, **2014**).
- [110] Indole Test: Principle, Procedure and Results, <http://microbeonline.com/indole-test-principle-procedure-results/> (Ekim, **2014**).
- [111] MR-VP Broth Tests, <http://faculty.lacitycollege.edu/hicksdr/mrvp.htm> (Ekim, **2014**).
- [112] Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Sim Matbaası, Ankara, **2000**.

- [113] General, Medical Microbiology, [http://www.uwyo.edu/molb2210\\_lab/images/simmons/jpg](http://www.uwyo.edu/molb2210_lab/images/simmons/jpg) (Ekim, 2014).
- [114] Wisterich, G., *Microbiology Perspectives, A Photographic Survey of the Microbial World*, Prentice-Hall International, New Jersey, 31-33s, 1999.
- [115] Escherichia coli in a TSI Slant, <http://www.microbelibrary.org/library/2-associated-figureresource/3732-escherichia-coli-in-a-tsi-slant> (Ekim, 2014).
- [116] Urease, Ammonia or Urea Broth Test <http://faculty.lacitycollege.edu/hicksdr/urea.htm> (Ekim, 2014).
- [117] Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., Beachey, E. H., Adherence of Coagulase-Negative Staphylococci to Plastic Tissue Culture Plates: A Quantitative Model for the Adherence of Staphylococci to Medical Devices, *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 996-1006, 1985.
- [118] Christensen G. D., Simpson, W. A., Bisno, A. L., Beachey, E. H., Adherence of Slime Producing Strains of *Staphylococcus epidermidis* to Smooth Surfaces, *Infection and Immunity*, 37, 318-26, 1982.
- [119] Christensen, G. D., Baldassari, L., Simpson, W. A., Colonization of Medical Devices by Coagulase-Negative Staphylococci, Bisno, A., Waldvogel, F. A., editors, *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*, 2<sup>nd</sup> edition, ASM Press, Washington DC, 45-78, 1994.
- [120] Deighton, M. A., Balkau, B., Adherence Measured by Microtiter Assay as a Virulence Marker for *Staphylococcus epidermidis* Infections, *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 2442-7, 1990.
- [121] Younger, J. J., Christensen, G. D., Bartley, D. L., Simmons, J. C., Barrett F. F., Coagulase Negative Staphylococci Isolated from Cerebrospinal Fluid Shunts: Importance of Slime Production, Species Identification, and Shunt Removal to Clinical Outcome, *Journal of Infectious Disease*, 156, 548-54, 1987.
- [122] O'Toole, G. A., Pratt, L. A., Watnick, P. I., Newman, D. K., Weaver V. B. and Kolter, R., Genetic Approaches to Study of Biofilms, *Methods in Enzymology*, 310, 91-109, 1999.



- [123] Mah, T. F., O'Toole, G. A., Mechanisms of Biofilm Resistance to Antimicrobial Agents, *Trends Microbiology*, 9, 34-39, **2001**.
- [124] Donlan, R. M., Biofilm Formation: A Clinically Relevant Microbiological Process, *Clinical Infectious Disease*, 33, 1387-1392, **2001**.
- [125] Boe-Hansen, R., Albrechtsen, H. J., Arvin, E. and Jorgensen, C., Dynamics of Biofilm Formation in a Model Drinking Water Distribution System, *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua*, 51, 399-406, **2002**.
- [126] Carrasco, M. S., Moragues, L. G., Vignatti, C. I., Scarinc H. E., Simonetta A. C., Characterisation and Technological Aspects of yeasts Isolated from Raw Milk and Different Types of Cheeses Produced in Argentina, *Australian Journal of Dairy Technology*, 61(1) 21-25, **2006**.
- [127] Kierek-Pearson, K., Karatan, E., Biofilm Development in Bacteria, *Advances in Applied Microbiology*, 57, 79-111, **2005**.
- [128] Altun, H. U., Şener, B., Biofilms and Antimicrobial Resistance, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 39, 82-88, **2008**.
- [129] Tabak, F., Aktuğlu, Y., Hastaneden Edinilmiş Enfeksiyonlar, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 32, 205-206, **2001**.
- [130] Papin, D., *Klinik Materyallerden İzole Edilen Escherichia coli Suşlarında Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, **2009**.
- [131] Yetkin, G., Kuzucu, Ç., Çalışkan, A., İdrarda Üreyen *Escherichia coli*'lerin Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz Yönünden İncelenmesi, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13(4), 249-252, **2006**.
- [132] Karlowsky, J. A., Thornsberry, C., Jones, M. E., Sahm, D. F., Susceptibility of Antimicrobial Resistant Urinary *Escherichia* Isolates to Fluoroquinolones and Nitrofurantoin, *Clinical Infectious Diseases*, 36(2), 183-187, **2003**.
- [133] Dias Neto, J. A., Martins, A. C. P., Tiraboschi, R. B., Domingos, A. L. A., Cologna, A. J., Paschoalin, E. L., Tucci, J. S., Community Acquired Urinary Tract Infection: Etiology and Bacterial Susceptibility, *The Journal Acta Cirurgica Brasileira*, 18 (Suppl. 5), 33-35, **2003**.

- [134] Kothari, A., Sagar, V., Antibiotic Resistance in Pathogens Causing Community-Acquired Urinary Tract Infections in India: A Multicenter Study, *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2(5), 354-358, **2008**.
- [135] Francesco, M. A., Ravizzola, G., Peroni, L., Negrini, R., Manca, N., Urinary Tract Infections in Brescia, Italy: Etiology of Uropathogens and Antimicrobial Resistance of Common Uropathogens, *Medical Science Monitor*, 13(6), 136-144, **2007**.
- [136] Güneysel, Ö., Erdede, M., Denizbaşı A. Trimethoprim Sulfamethoxazole Resistance in Urinary Tract Infections: Which is Next?, *European Journal of Emergency Medicine*, 13, 48, **2006**.
- [137] Soto, S. M., Smithson A., Martinez, J. A., Horcajada, J. P., Mensa J., Vila J., Biofilm Formation in Uropathogenic *Escherichia coli* Strains: Relationship with Prostatitis, Urovirulence Factors and Antimicrobial Resistance, *The Journal of Urology*, 177, 365-368, **2007**.
- [138] Ekinci, E., Gunay, O., Bazı Semptom ve Bulguların İdrar Yolu Enfeksiyonu Tanısındaki Geçerliliğinin Değerlendirilmesi, *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(1), 55-63, **2004**.
- [139] Uzun, A., Gülen, D., Tanrıverdi, Y., Kaya A. D., Fosfomisin ve Bazı Antimikrobiyal Ajanların Üriner *Escherichia coli* İzolatlarına in vitro Etkinliğinin Değerlendirilmesi, *Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 25(2), 77-80, **2012**.
- [140] Bours, P. H. A., Polak, R., Hoepelman, A. I. M., Delgado, E., Jarquin, A., Matute, A. J., Increasing Resistance in Community-Acquired Urinary Tract Infections in Latin America, Five Years after the Implementation of National Therapeutic Guidelines, *International Journal of Infectious Disease*, 14, 770-4, **2010**.
- [141] Falagas, M. E., Polemis, M., Alexiou, V. G., Mastrogiannaki, A., Kremastinou, J., Vatopoulos, A. C., Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Urinary Isolates from Primary Care Patients in Greece, *Medical Science Monitor*, 14(2), 75-79, **2008**.
- [142] Özsut, H., İdrar Yolları Enfeksiyonları, (eds: Topcu, A. W., Söyletir, G., Doğanay, M.) *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, Cilt 1, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 1059-1069, **2002**.

- [143] Çelebi, S., Yüce, N., Çakır, D., Hacımüstafaoğlu, M., Özkaya, G., Çocuklarda Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *E. coli* Enfeksiyonlarında Risk Faktörleri ve Klinik Sonuçları, *Çocuk Enfeksiyonları Dergisi*, 3, 5-10, **2009**.
- [144] Alım, A., Oğuzkaya Artan, M., Sağlık Ocaklarına Başvuran Üriner Sistem Enfeksiyonu Ön Tanılı Hastalardan İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılığı, *İnfeksiyon Dergisi*, 22(2), 83-85, **2008**.
- [145] Abaslı, H. E., Şenses, Z., Doğanay, U. D., Aydoğan, H., Başustaoğlu, A. C., GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 2004-2006 Yılları Arasında İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıkları, In: 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti*, İstanbul, 251, **2006**.
- [146] İlhan, F., Palabıykoğlu, İ., Bengisun, J. S., *Escherichia coli* Suşlarında Direnç Profilinin Değerlendirilmesi, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 3, 32-34, **2001**.
- [147] Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. J., and McDermott, P. F., Antimicrobial Drug Resistance in *Escherichia coli* from Humans and Food Animals, United States, 1950–2002, *Centers for Disease Control*, 18, 5, **2012**.
- [148] Öztürk, B. Ş., Sakarya, S., Öncü, S., Ertuğrul, M. B., Biyofilmler ve Yabancı Cisim Enfeksiyonları, *Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 21(3), 79-86, **2008**
- [149] Reisner, A., Maierl, M., Jörger, M., Krause, R., Berger, D., Haid, A., Tesic, D., and Zechner, E. L., Type 1 Fimbriae Contribute to Catheter-Associated Urinary Tract Infections Caused by *Escherichia coli*, *Bacteriology Journal*, March, 196, 5 931-939, **2014**.
- [150] Azevedo, A. S., Almeida, C., Melo, L. F., Azevedo, N. F., Interaction between Atypical Microorganisms and *E. coli* in Catheter-Associated Urinary Tract Biofilms, *Biofouling*, Sep, 30(8), 893-902, **2014**.
- [151] Teke, T., Yavuz, Z., Atalay, H., Maden, E., Solak, Y., Uzun, K., Yoğun Bakımda Katater Nedenli İdrar Yolu Enfeksiyonlarını Önlemede Gümüş Kaplı İdrar Sondasının Etkinliği, *Yoğun Bakım Dergisi*, 2, 45-47, **2010**.
- [152] Mıdık, F., Tokatlı, M., Özçelik, F., Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritler ve Üretimini Etkileyen Faktörler, 7. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, 26, 266, **2011**.

- [153] Stewart, P. S., Mechanisms of Antibiotic Resistance in Bacterial Biofilms, *International Journal of Medical Microbiology*, 292, 107-113, **2002**.
- [154] Dudin, O., Geiselman, J., Ogasawar, H., Ishihama, A., Lacour S., Repression of Flagellar Genes in Exponential Phase by CsgD and CpxR, Two Crucial Modulators of *Escherichia coli* Biofilm Formation, *Journal of Bacteriology*, 196(3), 707-715, **2014**.
- [155] Özbakır, G. *Staphylococcus epidermitis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının Tanımlanması, Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Dirençliliklerinin ve Oluşturdukları Biyofilmlerin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, **2011**.
- [156] Sahal, G., Bilkay, I. S., Multi Drug Resistance in Strong Biofilm Forming Clinical Isolates of *Staphylococcus epidermidis*, *Braslian Journal of Microbiology*, 45(2), 539–544, **2014**.
- [157] Vogeleer, P., Tremblay, Y. D. N., Mafu, A. A., Jacques, M., Harel, J., Life on the Outside: Role of Biofilms in Environmental Persistence of Shiga-Toxin Producing, *Escherichia coli*, *Frontiers in Microbiology*, 5, 317, **2014**.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Gizem GÜVEN

Doğum Yeri: Salihli

Doğum Tarihi: 23/02/1989

Medeni Hali: Evli

E-posta: gizemyasal@yandex.com

Adresi: Namık Kemal Cad. No:4 D:9 Avcılar/İstanbul

### Eğitim

Lise: Fatih Anadolu Lisesi (2003-2007)

Lisans: Hacettepe Üniversitesi-Biyoloji Bölümü (2007-2011)

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi-Biyoloji Bölümü-Biyoteknoloji Anabilim Dalı (2011-2015)

### Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce: KPDS (64)

### İş Deneyimi:

02/2014'den beri World Academy of Science Engineering and Technology/Editor

### Deneyim Alanları:

Biyoteknoloji, Mikrobiyoloji, Parazitoloji

### Tezden Üretilmiş Proje ve Bütçesi

-

### Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

### Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

-