



***Escherichia coli* KLİNİK İZOLATLARINDA *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M}
GENLERİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYON YÖNTEMİYLE
BELİRLENMESİ**

Ersin KAYA

**Yüksek Lisans
Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL**

2019

Artvin

T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Escherichia coli KLİNİK İZOLATLARINDA *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M}
GENLERİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYON YÖNTEMİYLE
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ersin KAYA

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL

Artvin 2019

TEZ BEYANNAMESİ

Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Escherichia coli* Klinik İzolatlarında *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M} Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyon Yöntemiyle Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 22/05/2019

Ersin KAYA

T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Escherichia coli KLİNİK İZOLATLARINDA *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M}
GENLERİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYON YÖNTEMİYLE
BELİRLENMESİ

Ersin KAYA

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 22/05/2019

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 27/06/2019

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi AYŞEGÜL SARAL

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Melahat ÖZCAN

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Azer ÖZAD DÜZGÜN

ONAY:

Bu Yüksek Lisans, Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından .../.../..... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../..... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

.../.../2019

.....

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“*Escherichia coli* Klinik İzolatlarında *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M9} Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyon Yöntemiyle Belirlenmesi” adlı bu çalışma Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans öğrenciliğimin her aşamasında değerli görüş ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL’a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Klinik örnekleri izole eden, tanımlayan, antibiyotik duyarlılık profillerini belirleyen Uzm. Dr. Tuba KÖSE ve ekibine, klinik örneklerin elde edilmesinde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Esmâ AKYILDIZ’a, teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bana her türlü desteği veren ve bugünlere gelmemde en büyük payı olan annem Nejla KAYA, babam Cemal KAYA ve sevgili eşim Aynur KAYA’ya en içten saygı, teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Araştırmanın bilimsel ve teknik açıdan uygulayıcılara faydalı olmasını dilerim.

Ersin KAYA
Artvin - 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEZ BEYANNAMESİ	I
ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
1 GENEL BİLGİLER.....	1
1.1 Giriş	1
1.2 Literatür Çalışması.....	3
1.2.1 Antibiyotiklerin Tarihçesi.....	3
1.2.2 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....	6
1.2.3 Antibiyotiklerin Kimyasal ve Moleküler Yapılarına Göre Sınıflandırılması.....	6
1.2.3.1 β -Laktamlar.....	6
1.2.3.2 Makrolidler.....	10
1.2.3.3 Tetrasiklinler	11
1.2.3.4 Kinolonlar	12
1.2.3.5 Aminoglikozitler.....	13
1.2.3.6 Sülfonamidler	14
1.2.3.7 Glikopeptidler	14
1.2.3.8 Oksazolidinonlar	15
1.2.4 Antibiyotiklerin Etki Mekanizmasına Göre Sınıflandırılması.....	16
1.2.4.1 Hücre Duvarını Hedefleyen Antibiyotikler	16
1.2.4.2 Protein Sentezi İnhibitörleri.....	17
1.2.4.3 DNA Replikasyon İnhibitörleri	18
1.2.4.4 Folik Asit Metabolizması İnhibitörleri.....	18
1.2.5 Bakteri Hücre Duvarı Yapısı	19
1.2.5.1 Gram Negatif Hücre Duvarı.....	19

1.2.5.2	Gram Pozitif Hücre Duvarı	22
1.2.6	β -laktamların Etki Mekanizması	23
1.2.7	Antibiyotik Direnci	23
1.2.7.1	Antibiyotik Direncinin Kökeni	23
1.2.7.2	Antibiyotik Direncinin Gelişimi	25
1.2.7.3	Antibiyotik Direncinin Sonuçları.....	25
1.2.8	Antibiyotik Direnci Mekanizmaları	26
1.2.8.1	Hedefe Erişimin Önlenmesi	26
1.2.8.2	Hedefin Değiştirilmesi	28
1.2.8.3	Antibiyotiklerin Doğrudan Modifikasyonu	30
1.2.8.4	Hidroliz	31
1.2.9	β -laktamaz Gruplarının Tanımları	32
1.2.9.1	Sefalosporinazlar.....	32
1.2.9.2	Penisilinazlar.....	33
1.2.9.3	Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar.....	34
1.2.9.4	OXA β -Laktamazlar	35
1.2.9.5	Serin Karbapenemazlar	35
1.2.9.6	Metallo- β -Laktamaz.....	36
1.2.10	Enfeksiyon Hastalıkları ve Antibiyotik Direnci	36
1.2.10.1	Gram Negatif Bakterilerle İlişkili Enfeksiyonlar	37
1.2.10.2	<i>E. coli</i> Enfeksiyonları.....	38
1.2.10.3	Ülkemizde <i>E. coli</i> 'de Antibiyotik Direnci	39
2	MATERYAL VE YÖNTEM.....	41
2.1	Materyal	41
2.2	Yöntem.....	42
2.2.1	<i>E. coli</i> İzolatlarının Temini ve Antibiyotik Duyarlılık Oranlarının Belirlenmesi	42
2.2.2	<i>E. coli</i> İzolatlarının Gliserol Stoklarının Yapılması ve Total DNA İzolasyonu	42
2.2.3	<i>E. coli</i> İzolatlarında <i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M1} ve <i>bla</i> _{CTX-M9} Genlerinin PZR ile Taranması	42
2.2.3.1	<i>E. coli</i> İzolatlarında <i>bla</i> _{TEM} Geninin Taranması.....	43
2.2.3.2	<i>E. coli</i> İzolatlarında <i>bla</i> _{SHV} Geninin Taranması	43

2.2.3.3	<i>E. coli</i> İzolatlarında <i>bla</i> _{CTX-M1} Geninin Taranması	44
2.2.3.4	<i>E. coli</i> İzolatlarında <i>bla</i> _{CTX-M9} Geninin Taranması	44
3	BULGULAR	46
3.1	<i>E. coli</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Oranları.....	46
3.2	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M1} ve <i>bla</i> _{CTX-M9} Genlerinin PZR ile Taranması.....	50
4	TARTIŞMA	53
5	SONUÇ VE ÖNERİLER	59
5.1	Sonuçlar.....	59
5.2	Öneriler.....	60
	KAYNAKLAR	61
	ÖZGEÇMİŞ	66

ÖZET

Escherichia coli KLİNİK İZOLATLARINDA *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M} GENLERİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYON YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Bilinçsiz antibiyotik kullanımı dirençli bakteri prevalansını artırmakta ve tedavi programlarında sorunlar yaşanmasına neden olmaktadır. Direnç gelişimi nedeniyle hasta ölüm oranları artmaktadır. Çoklu ilaç dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar ekstra sağlık maliyetlerine neden olmaktadır. *Escherichia coli* (*E. coli*) *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesidir. İnsan ve sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal sistemlerinde en çok rastlanan önemli patojenlerden birisidir. *E. coli* enfeksiyonlarının en yaygın görülenleri, üropatojenik izolatların neden olduğu idrar yolu enfeksiyonları ve enteropatojenik izolatların neden olduğu ishallerdir. Çalışmamızda kullanılan *E. coli* izolatları Eylül 2018 ile Ocak 2019 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir. 158 *E. coli* izolatının 145'i (%92) idrar, 5'i (%3) yara, 3'ü (%2) aspirat, 3'ü (%2) kan ve 2'si (%1) balgam örneklerinden izole edilmiştir. *E. coli* izolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için VITEK 2 sistemi kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılık profillerinin değerlendirilmesi Eucast (Eucast Version 9.0) kullanılarak yapılmıştır. *E. coli* izolatlarının gliserol stokları yapıldı. PZR için kalıp olarak kullanılacak DNA'lar total DNA izolasyonu ile elde edildi. *E. coli* izolatlarında *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M9} genleri PZR yöntemi ile tarandı ve sonuçlar jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi. 158 *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde en yüksek direnç oranı %99,4 ile ampicilene, en düşük direnç oranının ise %1,3 ile ertapeneme karşı olduğu görüldü. PZR sonuçlarına göre, 65 izolatta (%41,1) *bla*_{TEM}, 3 izolatta (%1,9) *bla*_{SHV}, 97 izolatta (%61,4) *bla*_{CTX-M1} ve 14 izolatta (%8,9) *bla*_{CTX-M9} tespit edildi. TEM+CTX-M1 gen kombinasyonu %26 oranı ile izolatlar arasında en yaygın gen kombinasyondur.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli*, Antibiyotik Direnci, Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz, CTX-M, SHV, TEM

SUMMARY

DETERMINATION OF *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} AND *bla*_{CTX-M} GENES BY POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD IN *Escherichia coli* CLINICAL ISOLATES

Unconscious antibiotic use increases the prevalence of resistant bacteria and causes problems in treatment programs. Patient mortality rates increase due to resistance development. Infections caused by multidrug-resistant bacteria cause extra health costs. *Escherichia coli* (*E. coli*) is a member of the family *Enterobacteriaceae*. It is one of the most common pathogens in the gastrointestinal systems of human and warm-blooded animals. The most common forms of *E. coli* infections are urinary tract infections caused by uropathogenic isolates and diarrhea caused by enteropathogenic isolates. The isolates of *E. coli* used in our study were obtained from the Trabzon Fatih State Hospital Microbiology Laboratory between September 2018 and January 2019. Of the 158 *E. coli* isolates, 145 (%92) were isolated from urine, 5 (%3) from wound, 3 (%2) from aspirate, 3 (%2) from blood and 2 (%1) from sputum samples. VITEK 2 system was used to identify and to determine antibiotic susceptibility of *E. coli* isolates. Evaluation of antibiotic susceptibility profiles was performed using Eucast (Eucast Version 9.0). Glycerol stocks of *E. coli* isolates were made. The DNAs to be used as a template for PCR were obtained by total DNA isolation. In *E. coli* isolates *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} and *bla*_{CTX-M9} genes were screened by PCR method and the results were visualized by gel imaging device. When the antibiotic susceptibility profiles of 158 *E. coli* isolates were examined, the highest resistance rate was found to be against ampicillin with 99.4% and the lowest resistance rate was against ertapenem. According to PCR results, *bla*_{TEM} was detected in 65 (%41.1) isolates, *bla*_{SHV} in 3 (%1.9) isolates, *bla*_{CTX-M1} in 97 (%61.4) isolates and *bla*_{CTX-M9} in 14 (%8.9) isolates. TEM + CTX-M1 gene combination is the most common gene combination between isolates with 26% ratio.

Keywords: *Escherichia coli*, Antibiotic Resistance, Extended Spectrum Beta-Lactamase, CTX-M, SHV, TEM

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için monoterapi olarak kullanılabilircek yaygın β -laktam antibiyotikler.	38
Tablo 2. <i>Escherichia coli</i> patojenik tipleri.	39
Tablo 3. <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri.	40
Tablo 4. Çalışmada kullanılan primerler.	43
Tablo 5. <i>bla</i> _{TEM} geni için termal döngü koşulları.	43
Tablo 6. <i>bla</i> _{SHV} geni için termal döngü koşulları.	44
Tablo 7. <i>bla</i> _{CTX-M1} geni için termal döngü koşulları.	44
Tablo 8. <i>bla</i> _{CTX-M9} geni için termal döngü koşulları.	45
Tablo 9. İzolatların antibiyotik duyarlılık profilleri.	47
Tablo 10. İdrar örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.	47
Tablo 11. Yara örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.	48
Tablo 12. Aspirat örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.	48
Tablo 12 (devam). Aspirat örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.	49
Tablo 13. Kan örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.	49
Tablo 14. Balgam örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.	50
Tablo 15. Pozitif izolatların kodları.	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Antibiyotik sınıflarının ilk klinik tanıtımının zaman çizelgesi.	4
Şekil 2. Bir β -laktam halkasının kimyasal yapısı.....	7
Şekil 3. Penisilin moleküler yapısı.....	7
Şekil 4. Sefalosporin moleküler yapısı.....	9
Şekil 5. Monobaktam moleküler yapısı.	9
Şekil 6. Karbapenem moleküler yapısı.	10
Şekil 7. Makrolid moleküler yapısı.....	11
Şekil 8. Tetrasiklin moleküler yapısı.....	12
Şekil 9. Kinolonun moleküler yapısı.....	12
Şekil 10. Streptomisin moleküler yapısı.	13
Şekil 11. Sülfonamid moleküler yapısı.	14
Şekil 12. Glikopeptid moleküler yapısı.....	15
Şekil 13. Linezolid moleküler yapısı.	16
Şekil 14. Penisilin ve D-Ala-D-Ala.	16
Şekil 15. Protein sentez inhibitörlerinin etki bölgesi.	17
Şekil 16. Gram-pozitif ve Gram-negatif hücre duvarlarının gösterimi.....	19
Şekil 17. Antibiyotik direncinin başlangıcının grafik gösterimi.	24
Şekil 18. Örneklerin oransal dağılımı.	46
Şekil 19. <i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M1} pozitif örneklerin %1'lik agaroz jel görüntüsü..	51
Şekil 20. <i>bla</i> _{CTX-M9} pozitif örneklerin %1'lik agaroz jel görüntüsü.	51
Şekil 21. Gen kombinasyonları grafiği.	52

KISALTMALAR DİZİNİ

AAF	Agregatif Yapışma Fimbriası
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIDA	Yaygın Yapışmaya Karışan Adezin
AIEC	Aderanİnvaziv <i>E. coli</i>
AmpC	Ampisilin Sınıf C
APEC	Avian Patojenik <i>E. coli</i>
Bfp	Paket Oluşturan Pillus
<i>bla</i>	Beta Laktamaz
CAP	Kovalent Olarak Eklenmiş Protein
CFA	Kolonizasyon Faktörü Antijeni
Cfr	Kloramfenikol-Florfenikol
CTX-M	Sefotaksim Hidrolizleyen
ÇİD	Çoklu İlaç Direnci
Daa	Yaygın Adezyon
DAEC	Diffüz Aderan <i>E. coli</i>
D-Ala	D-Alanin
dH ₂ O	Distile Su
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksinükleotid
DTA	Duvar Teikoik Asitleri
DZ	Dış Zar
DZP	Dış Zar Proteini
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EAEC	EnteroAgregatif <i>E. coli</i>
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EHEC	EnteroHemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	Enteroİnvaziv <i>E. coli</i>
EPEC	EnteroPatojenik <i>E. coli</i>
ER	Endoplazmik Retikulum
Erm	Eritromisin Ribozom Metilaz

EtBr	Etidyum Bromür
Eucast	Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
ExPEC	Ekstraintestinal <i>E. coli</i>
Fe	Demir
FQ	Florokinolonlar
gr	Gram
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
HUS	Hemolitik-Üremik Sendromu
IMP	İmipenem Üzerinde Aktif Metallo Beta Laktamaz
İpa	İstila Plazmid Antijeni
İYE	İdrar Yolları Enfeksiyonu
İZ	İç Zar
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Karbapenemaz
LB	Luria-Bertani
LEE	Enterosit Etkileme Odağı
LP	Lipoprotein
LPS	Lipopolisakkarit
LTA	Lipoteikoik Asit
M	Marker
MBL	Metallo-Beta-Laktamaz
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
MRSA	Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MurA	Pirüvil Transferaz Enzimi
MYSTIC	Meropenem Yıllık Duyarlılık Testi Bilgi Toplama
<i>N. gonorrhoeae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
NaCl	Sodyum klorür
NDM	New Delhi Metallo Beta Laktamaz
ng	Nanogram

nm	Nanometre
NMEC	Yenidoğan Menejit <i>E. coli</i>
OMP	Dış Zar Proteini
OmpC	Dış Zar Proteini C
OmpF	Dış Zar Proteini F
OXA	Oksasilinaz
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>P.notatum</i>	<i>Penicillium notatum</i>
PagP	Liman Birleştirme Protokolü
PBP	Penisilin Bağlayıcı Protein
PRP	Pentapeptit Tekrar Proteinlerini
PZR	Polimeraz Zincir Reksiyon
Qnr	Kinolon Direnç Geni
REP	Tekrarlı Gendışı Palindromik Eleman
RNA	Ribonükleik Asit
RND	Direnç-Nodülasyon-Bölünme
rpm	Dakikadaki Dönüş Sayısı
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
S	Svedberg Birimi
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
SCCmec	Stafilokoksik Kaset Kromozom Mec
Ser-β-laktamaz	Serin Beta Laktamaz
SHV	Sülfidril Değişken
TAE	Tris-Asetik Asit-EDTA
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TEM	Temoniera
T _m °C	Erime Sıcaklığı
TMP	Trimetoprim
tRNA	Taşıyıcı Ribonükleik Asit
UPEC	ÜroPatojenik <i>E. coli</i>
VRSA	Vankomisin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

WTA	Duvar Teikoik Asiti
Zn ⁺²	Çinko
ZTA	Lipoteikoik Asitler
β	Beta
μl	Mikrolitre
°C	Derece
%	Yüzde



1 GENEL BİLGİLER

1.1 Giriş

Bakteriyel büyümeyi inhibe etmek amacıyla kullanılan ilaçlar, bu etkisini kaybettiğinde antibiyotik direnci meydana gelmektedir. Böylelikle bakteriler “dirençli” hale gelirler ve antibiyotiklerin terapötik dozlarında bile çoğalmaya devam ederler. Sonuç olarak bu bakteriler, antibiyotik varlığında bile çoğaldıklarından, dirençli bakteriler adını alırlar (Zaman ve ark., 2017).

Antibiyotik direnci bakterilerin hayatta kalma mücadelesini artırmakta, tedavi programlarında sorunlar yaşanmasına neden olmaktadır. Bunun sonucu olarakta yaşamı tehdit eden uluslararası bir sorun haline gelmektedir. Antibiyotik direncine karşı tedbir almadığımız takdirde basit yaralanmaların dahi ölümle sonuçlanabileceği konusunda Dünya Sağlık Örgütü (WHO) uyarılmaktadır. Direnç gelişimi nedeniyle hasta ölüm oranları artmaktadır. Çoklu ilaç direncine sahip bakterilerin neden olduğu enfeksiyon tedavileri ekstra sağlık maliyetlerine ve verimlilik kayıplarına sebebiyet vermektedir. Artan antibiyotik kullanımı dirençli bakteri prevalansını artırmaktadır (Zaman ve ark., 2017).

Escherichia coli, *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesidir. İnsan ve sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal sistemlerinde en çok rastlanan önemli patojenlerden birisidir. Konak ile simbiyotik bir ilişki içerisindedir ve nadiren hastalıklara neden olmaktadır. Bununla birlikte, geniş bir hastalık yelpazesinin nedeni olduğu içinde, en yaygın insan ve hayvan patojenleri içerisinde yer almaktadır (Allocati ve ark., 2013).

E. coli izolatları bulundurdıkları virülans faktörü çeşidine göre patojenik tiplere sınıflandırılırlar. Enterik *E. coli*'nin en az yedi majör patotipi ve ekstraintestinal *E. coli*'nin ise 3 patotipi tanımlanmıştır. Bağırsak patojenleri, fekal-oral yoldan kontamine yiyecek veya su alımıyla yayılmaktadırlar (Allocati ve ark., 2013).

E. coli enfeksiyonlarının en yaygın görülenleri; üropatojenik izolatların neden olduğu idrar yolu enfeksiyonları ve enteropatojenik izolatların neden olduğu ishallerdir.

Bunların dışında nozokomiyal pnömoni, hemolitik üremik sendromu, akciğer enfeksiyonları, yenidoğan menenjit, sepsis, karın içi enfeksiyonlar, yara enfeksiyonları akut diyare, hemorajik kolit, şigelloz benzeri, crohn hastalığı, sistemik enfeksiyonlar, olası gıda kaynaklı hastalık gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır (Allocati ve ark., 2013).

UPEC (ÜroPatojenik *E. coli*), toplum kökenli *E. coli* izolatlarının idrar yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %90'ının ve nozokomiyal idrar yolu enfeksiyonlarının ise %50'sine kadarının etkeni olduğunu ortaya koymuştur (Toval ve ark., 2014). İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) dünya nüfusunun büyük bir kısmını etkilemektedir. Küresel çapta yaklaşık 150 milyon insan, yüksek sosyal maliyeti olan İYE'ye her yıl yakalanmaktadır. İdrar yolu enfeksiyonları, şiddet derecesine göre ürosepsis sendromu, piyelonefrit ve sistit şeklinde sınıflandırılır. Antibiyotik tedavisinin başarısı, idrar yolu enfeksiyonundan sorumlu üropatojenlerin antimikrobiyal direnç paternine ve identifikasyonuna bağlı olmaktadır. Bakteriyel karakterizasyon olmadan idrar yolu enfeksiyonunu tedavi etmek için antibiyotik kullanımı üropatojenler arasında artan direnç oluşumuna neden olmuştur (Terlizzi ve ark., 2017).

UPEC izolatları antibiyotik duyarlılıkları açısından incelendiğinde imipenem, ertapenem, amikasin ve nitrofurantoin en etkili antibiyotiklerdir. UPEC izolatları ayrıca siprofloksasin, sefotaksim, piperasilin/tazobaktam, azitromisin, doksisisiklin ve seftriaksona karşı duyarlı olmasına rağmen birçoğu da ampisilin, oral birinci kuşak sefalosporinler, trimetoprim-sülfametoksazol, sefuroksim, kotrimoksazol, amoksisilin-klavulanat, nalidiksik asit, sefradin ve aminopenisilinlere karşı ise direnç göstermektedirler (Terlizzi ve ark., 2017).

Klinik açıdan ciddi sorunların başında GSBL barındıran patojenler yer almaktadır. Özellikle tüm dünyada CTX-M β -laktamazı üreten *E. coli* prevalansında büyük bir artış görülmektedir. Hastane veya toplum kökenli *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin tespiti ve GSBL kodlayan genlerin moleküler yöntemler kullanılarak belirlenmesi bu bakımdan büyük önem taşımaktadır. Sonuç olarak antibiyotik duyarlılık ve direnç gen paternleri, daha uygun ve daha etkili tedavi programlarının oluşmasına katkı yapacaktır (Deveci ve ark., 2010).

1.2 Literatür Çalışması

1.2.1 Antibiyotiklerin Tarihçesi

Antibiyotik terimi, tam anlamıyla "yaşam karşıtı" anlamına gelen "antibiyozis" kelimesinden türetilmiştir. Geçmişte, antibiyotikler diğer mikroorganizmalar için toksik olan bir mikroorganizma tarafından üretilen organik bileşikler olarak kabul edilmiştir. Böylelikle antibiyotikler düşük konsantrasyonlarda bile diğer mikroorganizmaların büyümesini inhibe edebilen ya da öldüren biyolojik kökenli, mikroorganizmalar tarafından üretilen bir madde olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, bu tanım, modern zamanlarda, kısmen veya tamamen sentetik yollarla üretilen antimikrobialleri de içerecek şekilde değiştirilmiştir (Etebu ve Arikekpar, 2016).

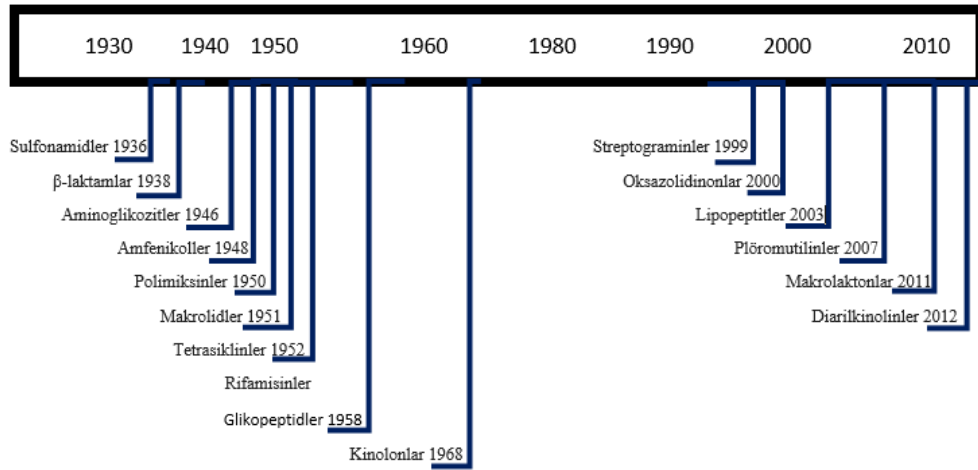
Bazı antibiyotikler diğer bakterileri tamamen öldürebilirken, bazıları sadece büyümelerini engelleyebilir. Bakterileri öldürenler bakterisit olarak adlandırılırken, bakteriyel büyümeyi engelleyenler bakteriyostatik olarak adlandırılır. Antibiyotik genellikle antibakteriyel anlamına gelmesine rağmen, antibiyotik bileşikleri antagonize ettiği mikroorganizma grubunu yansıtacak şekilde antibakteriyel, antifungal ve antiviral olarak ayrılır (Etebu ve Arikekpar, 2016).

İnsan hastalıklarının geçmişine bakıldığında, bulaşıcı hastalıklar bir bütün olarak hastalıkların çok büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. 19. yüzyılın ikinci yarısına kadar, mikroorganizmaların, antik çağlardan beri süregelen çeşitli bulaşıcı hastalıklardan sorumlu olduğu saptanamamıştır (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Dünyadaki ilk antimikrobiyal ajan, 1910'da Ehrlich tarafından sentezlenen sifiliz için bir ilaç olan salvarsan idi. 1935'te, Domagk ve diğer araştırmacılar tarafından sülfonamidler geliştirilmiştir. Bu ilaçlar sentetik bileşiklerdi ve güvenlik ile etkinlik açısından sınırlamalar bulunmaktaydı. Penisilin, Eylül 1928'de bir İngiliz Bakteriolog, Sir Alexander Fleming tarafından kazara, toprakta bulunan bir mantar olan *Penicillium notatum*'dan elde edilmiştir. Ancak ilk kez 1929'da keşfedildiği rapor edilmiş ve 1940 yılında insanlarda ilk kez klinik araştırmalar yapılmıştır. Güvenlik ve etkinlik açısından önemli bir ajan olan penisilin, II. Dünya Savaşı sırasında birçok yaralı askerin hayatını kurtararak antimikrobiyal kemoterapi çağına öncülük etmiştir. 1920'lerde ilk önemli antibiyotik penisilin keşfi ve gelişmesi ve 1940'lı yıllarda

insan sağlığı sistemlerine girmesi bakteriyel enfeksiyonlara karşı antibiyotikle m¼cadeleyi devam ettirmiştir. Bununla birlikte, antibiyotikler antibakteriyel aktivitelerinde tamamen se¼ici değildir. Bakteriyel hastalığı antagonize ederken, aynı zamanda sistemimizde hepimizin sahip olduğu ve ihtiya¼ duyduğu mide-bağırsak yolundaki normal ve yararlı mikrobiyotayı antagonize eder. Bu nedenle, verilen herhangi bir antibiyotiğin re¼etesi ve uygulanması, eşlik eden yan etkileri de dikkate alınarak, genel ama¼lanan faydaya dayanmaktadır (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Takip eden yirmi yıl i¼inde, antimikrobiyal kemoterapinin altın ¼ađına yol a¼an, birbiri ardına yeni antimikrobiyal ajanlar keşfedilmiştir (şekil 1). 1944 yılında, bir streptomisin olan aminoglikozid grubu antibiyotik, toprak bakterisi *Streptomyces griseus*'tan elde edilmiştir. Daha sonra, kloramfenikol, tetrasiklin, makrolit ve glikopeptid (örn.Vankomisin), toprak bakterilerinden keşfedilmiştir. Kinolon grubu sentez ¼r¼n¼ nalidiksik asit 1962'de elde edilmiştir. Antimikrobiyal ajanların her bir sınıfındaki gelişmeler daha geniş bir antimikrobiyal spektrum ve daha y¼ksek antimikrobiyal aktiviteye ulaşmaya devam etmiştir (Saga ve Yamaguchi, 2009).



şekil 1. Antibiyotik sınıflarının ilk klinik tanıtımının zaman ¼izelgesi (Fair ver Tor, 2014).

Penisilinlerin *Staphylococcus aureus* gibi Gram pozitif organizmalar üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Daha sonra penisilini hidrolize edici enzim penisilinaz ¼reten penisiline diren¼li *S. aureus*'a karşı metisilin geliştirilmiştir. Diğer taraftan, antimikrobiyal spektrumun genişletilmesi girişimleri, Gram negatif

Enterobacteriaceae için etkili olan ampisilin ve *Pseudomonas aeruginosa* için etkili olan piperasilinin keşfine yol açmıştır (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Sefemler 1960'larda geliştirilmiştir ve yaygın kullanıma girmiştir. Sefemler, antimikrobiyal spektrumlarına göre çeşitli kuşaklara ayrılırlar. Birinci kuşak sefemler, sadece Gram pozitif organizmalar ve *E. coli* için etkilidir, bu organizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri kuvvetlidir. İkinci kuşak sefemler, sadece Gram pozitif değil, aynı zamanda *Enterobacteriaceae* dâhil olmak üzere Gram negatif organizmaları da kapsayan genişlemiş bir antimikrobiyal spektruma sahiptir. Üçüncü kuşak sefemler, Gram negatif organizmalar için daha yüksek etkiye sahiptir ve bu kuşaktaki bazı ilaçlar, *P. aeruginosa* için de etkilidir, ancak Gram pozitif organizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri genellikle ilk kuşağınkinden daha düşüktür (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Karbapenemler sadece Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler için değil, aynı zamanda anaeroblar için de etkilidir ve antimikrobiyal aktiviteleri kuvvetlidir. Monobaktam antibiyotik aztreonam, sadece Gram negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösterir (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Antimikrobiyal spektrum ve aktiviteye ek olarak çeşitli yönlerden antimikrobiyal ajanlar için sürekli iyileştirmeler yapılmıştır. İlaçlar, emilim, kandaki konsantrasyon ve daha küçük bir alana odaklanma dahil olmak üzere daha iyi farmakodinamikler elde etmek için geliştirilmiştir. Ayrıca antimikrobiyal kemoterapide ilaç güvenliğine daha fazla önem verilmiştir. Ciddi yan etkilere sahip antimikrobiyal ajanlar yerine başka güvenli ilaçlar geliştirilmiştir (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Kinolon antimikrobiyalleri, geliştirilmiş farmakodinamik ve güvenli ilaçların bir örneğini temsil eder. Bu sınıfın ilk ilacı olan nalidiksik asit, sadece Gram negatif bakterilere karşı aktifti ve kullanımı sadece idrar yolu enfeksiyonları ile sınırlıydı. Aksine, 1984'te piyasaya sürülen norfloksasin stabil olup, metabolik durumu korur ve iyi bir doku dağılımı sergiler. Antimikrobiyal spektrumu, *P. aeruginosa* dâhil olmak üzere hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterileri kapsayacak şekildedir. Norfloksasinden sonra geliştirilen kinolon antimikrobiyaller yeni kinolonlar olarak adlandırılmakta ve halen önemlerini korumaktadırlar. Levofloksasin, ofloksasin S(-)

enantiyomeridir. Bu enantiyomer, ofloksasinin diğeri R-(+) enantiyomerinden daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesinde çeşitli ülkelerdeki çok sayıda şirket rekabet etse de, son yıllarda yeni ilaçların sayısı giderek azalmıştır. Yeni sınıfların az sayıda antimikrobiyal ajanı kullanıma girmiştir. Bunun aksine, var olan bulaşıcı hastalıklar, ortaya yeni çıkan bulaşıcı hastalıklar ve fırsatçı bulaşıcı hastalıklar insanlara saldırmaya devam etmektedir. Mevcut sınırlı seçeneklerin etkin kullanımının, piyasadaki yeni ilaçların yokluğunda çok daha önem arz ettiği düşünülmektedir (Saga ve Yamaguchi, 2009).

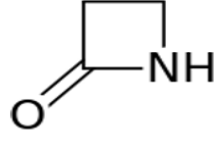
1.2.2 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotiklerin sınıflandırılmasının birkaç yolu vardır, ancak en yaygın sınıflandırmalar, moleküler yapılarına, etki mekanizmasına ve aktivite spektrumuna dayanmaktadır. Diğer sınıflandırmalar uygulama yoluna göre yapılmaktadır (enjekte edilebilir, oral ve topikal). Aynı yapısal sınıf içerisindeki antibiyotikler genel olarak benzer etkililiğin yanında benzer toksisite ve alerjik potansiyel gibi yan etkiler göstermektedir. Kimyasal veya moleküler yapılarına göre antibiyotikler β -laktamlar, makrolidler, tetrasiklinler, kinolonlar, aminoglikozitler, sülfonamidler, glikopeptitler ve oksazolidinonlar olarak sınıflandırılmaktadır (Etebu ve Arikekpar, 2016).

1.2.3 Antibiyotiklerin Kimyasal ve Moleküler Yapılarına Göre Sınıflandırılması

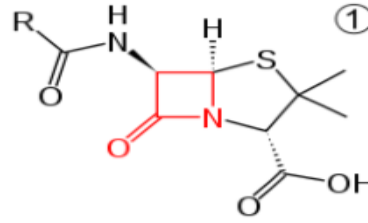
1.2.3.1 β -Laktamlar

Bu sınıfa dâhil antibiyotikler, yüksek oranda reaktif olan 3-karbon ve 1-nitrojen içeren halka yapısındadır (Şekil 2). Bakteriyel hücre duvarının sentezi için gerekli olan proteinlere müdahale ederler. Böylelikle ya bakterilerin büyümelerini inhibe ederler ya da bakterileri öldürürler. Penisilin bağlayan protein (PBP) olarak adlandırılan bazı bakteriyel enzimler, peptidoglikanın sentezi sırasında çapraz bağlanan peptid birimlerinden sorumludur. β -laktam antibiyotiklerin üyeleri PBP enzimlerine bağlanır ve peptidoglikanın sentezini durdururlar. β -laktam grubu antibiyotikler; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemlerdir (Etebu ve Arikekpar, 2016).



Şekil 2. Bir β -laktam halkasının kimyasal yapısı (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Penisilin, ilk olarak 1928’da Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş, daha sonra penisilinler olarak adlandırılan diğer birçok antibiyotik kullanıma sunulmuştur. Penisilinler, -silin son eki alan aminopenikül asidi (laktam artı tiazolidin) halkası ve diğer halka yan zincirleri içeren bileşiklerdir (Şekil 3) (Etebu ve Arikekpar, 2016).



Şekil 3. Penisilin moleküler yapısı (Etebu ve Arikekpar, 2016).

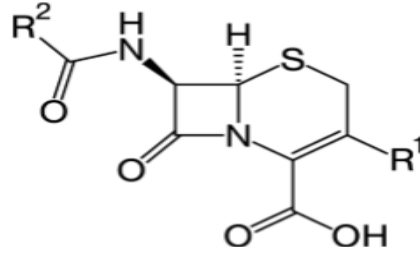
Penisilin sınıfı üyeleri, penisilin G, penisilin V, oksasilin (diklooksasilin), metisilin, nafsilin, ampisilin, amoksisilin, karbenisilin, piperasilin, mezlosilin ve tikarsilindir. Penisilin G tüm antibiyotikler arasında ilk üretilen üründür. 1920’lerde penisilin G, Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş olmasına rağmen, 1945’te mantarın kültürel gereksinimlerini ve antibiyotiğin klinik etkinliğini anlamak için Ernst Boris Chain, Edward Abraham, Norman Heatley ve Howard Florey gibi diğer bazı bilim insanlarının çalışmaları yer almıştır. Ayrıca, penisilin G orijinal olarak Alexander Fleming tarafından *P. notatum* mantarından keşfedilmiş ve izole edilmiş olmasına rağmen, *P. chrysogenum*, tercih edilen kaynak seçimidir. Penisilin G dar bir spektruma sahiptir; sadece Gram pozitif bakteriler (streptokok) ve sifiliz (Frengi) hastalığının etkeni *Treponema pallidum* gibi bazı Gram negatif bakterilere karşı etkilidir (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Canlı sistemlerin kendini saldırıdan korumak istediği her biyolojik etkileşim sisteminde olduğu gibi, bazı bakteriler de çeşitli enzimlerle antibiyotiklerin

aktivitesine karşı koyabilirler. Bu nedenle, ampisilin, karbenisilin ve amoksisilin gibi bazı antibiyotikler, farklı yan zincirlerle yarı sentetik olarak geliştirilmiştir. Bu yan zincirler, antibiyotiklere, bazı bakteriyel suşlar tarafından üretilen belirli enzimlerin degradatif kapasitesinden kaçınma ve bu bakteriyel suşların hücre duvarlarının dış zarından antibiyotiklerin hareketini kolaylaştırma yeteneklerini kazandırmaktadır. Bu çift yönlü yetenek, Gram negatif bakterilere karşı etkinlik spektrumunu arttırmıştır. Özellikle, Augmentin gibi bazı penisilinler, bakteriyel penisilinaz enziminin aktivitesini inhibe edebilen antibiyotik olmayan bileşik ile kombinasyon halinde üretilir. Augmentin aslında amoksisilin (antibiyotik) ve klavulanik asitten oluşan bir ilaçtır. Klavulanik asit, β -laktamaz enzimini inhibe ederek, penisilinaz üreten bakteriler arasında bile Augmentinin amoksisilin bileşeninin antibakteriyel aktivitesini arttırabilir (Etebu ve Arikekpar, 2016).

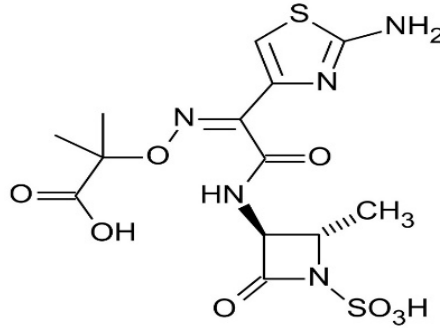
Sefalosporin grubunun üyelerinin yapıları ve etki mekanizmalarıda penisiline benzer. En sık reçete edilen ve uygulanan antibiyotiklerdendir. Birleşik Krallık'taki Ulusal Sağlık Programı tarafından önerilen ve verilen tüm antibiyotiklerin üçte birini oluştururlar. Bu antibiyotik grubunun ilk bilinen üyesi ilk olarak 1945 yılında Guiseppe Brotzu tarafından, *Cephalosporium acremonium* mantarından izole edilmiştir. İlaç ilk olarak Guiseppe Brotzu tarafından izole edilmiş olmasına rağmen, bu bileşik için patent almaya hak kazanan Edward Abraham'dır. Sefalosporinler, 7-aminoasefalosporanik asit çekirdeği ve yan zincir içeren 3,6-dihidro-2H-1,3-tiyazon halkasını içerir (Şekil 4). Sefalosporinler, penisilinaz üreten, metisiline duyarlı *Staphylococci* ve *Streptococci*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Haemophilus influenza*, *Enterobacter aerogenes* ve bazı *Neisseria* kökenli bakteriyel enfeksiyonların ve hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Sefalosporinler hedef organizmalarına göre kuşaklara bölünmüştür ve sonraki kuşaklar Gram negatif patojenlere karşı giderek daha etkilidir. Sefalosporinler, kan beyin bariyerini aşmayı sağlayan, penisilinaz üreten bakteriyel suşlar ile parçalanmaya karşı direnç kazandıran, Gram negatif bakteriyel hücrelere girişi kolaylaştıran ve farklı penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) bağlanmasını sağlayan çeşitli yan zincirlere sahiptir (Etebu ve Arikekpar, 2016).



Şekil 4. Sefalosporin moleküler yapısı (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Monobaktamların keşfi ilk olarak Skyes ve çalışma arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Antibiyotik, *Chromobacterium violaceum* bakterisinden elde edilmiştir. Monobaktamlar diğer birçok β -laktamın aksine, tek başına β -laktam halkasından oluşur (Şekil 5). Aztreonam, dar bir aktivite spektrumu olan, ticari olarak satılan tek antibiyotiktir. Aztreonam sadece *Neisseria* ve *Pseudomonas* gibi aerobik Gram negatif bakterilere karşı aktiftir. Bu grup bakterilerin neden olduğu pnömoni, septisemi ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Monobaktamlar, Gram pozitif bakterilere veya anaeroblara karşı etkili değildir (Etebu ve Arikekpar, 2016).



Şekil 5. Monobaktam moleküler yapısı (Etebu ve Arikekpar, 2016).

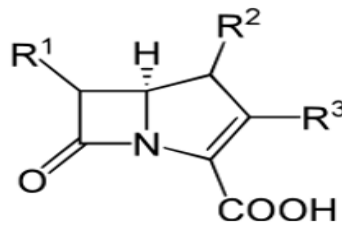
1960'ların sonlarında penisilinlin etkinliğini bakterilerdeki β -laktamazın ortaya çıkması nedeniyle büyük ölçüde azalmıştır. Bakteriyel β -laktamazlar, penisilinlere karşı direnç göstermiştir. Bu da, bilim adamlarını β -laktamaz inhibitörleri için büyük bir araştırma yapmaya yöneltmiştir. 1976'da *Streptomyces clavuligerus* tarafından üretilen olivanik asitlerin β -laktamazı inhibe ettiği ortaya çıkmıştır. Ne yazık ki, bu asitler kimyasal olarak kararsızdı ve bakteriyel hücrelere kolayca nüfuz edemedi. Bu aksilikler olivanik asitler üzerinde çalışmalarını yavaşlatmıştır, ancak kısa bir süre sonra *Streptomyces clavuligerus*'tan klavulanik asit izole edilmiştir. Karbapenemler 1976

yılında gereklilikten ortaya çıkmıştır. *Streptomyces cattleya*'dan izole edilen tienamisin ilk "karbapenem" olarak kabul edilir ve diğer tüm karbapenemler için bir standarttır (Şekil 6) (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Bakteriyel enfeksiyonlara karşı mücadelede karbapenemler çok önemli bir yer tutar. Bunun nedeni, β -laktamaz enziminin hidrolitik etkisine direnebilmeleridir. Yüzlerce bilinen β -laktamın arasında karbapenemler, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı en geniş etki spektrumuna ve en yüksek potansiyele sahiptir. Sonuç olarak, genellikle "son çare antibiyotikler" olarak adlandırılırlar ve enfeksiyon hastaları ağır hastalığa yakalandıklarında veya dirençli bakterileri barındırdıkları şüphelenildiğinde uygulanırlar (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Karbapenem örnekleri:

1. İmipenem, aerobik ve anaerobik patojenlere karşı etkilidir, genellikle düşük konsantrasyonlar da oral ve aktif olarak alınır ve minimal alerjik yan etkilere sahiptir.
2. Meropenem, nonfermentatif Gram negatif basile karşı etkili geniş bir spektruma sahiptir.
3. Ertapenem, fermentatif olmayan Gram negatif basillere karşı sınırlı aktiviteye sahip geniş bir spektrum sahiptir (Etebu ve Arikekpar, 2016).



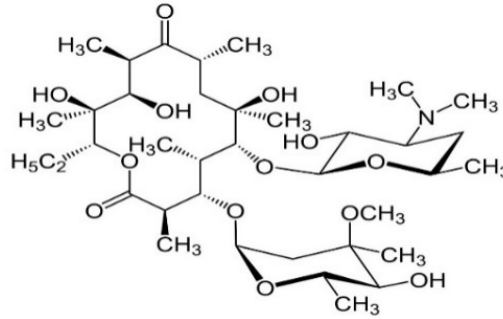
Şekil 6. Karbapenem moleküler yapısı (Etebu ve Arikekpar, 2016).

1.2.3.2 Makrolidler

Makrolidlere ait olan ilk antibiyotik 1952 yılında J. M. McGuire tarafından *Saccharopolyspora erythraea*'nın metabolik bir ürünü olarak keşfedilmiş ve izole edilmiştir. Makrolidler, olağandışı deoksi şekerler L-kladinöz ve D-desosamin

eklenmiş 14-, 15- veya 16 üyeli makrosiklik laktoz halkaları ile karakterize edilir (Şekil 7). Penisiline göre daha geniş bir antibiyotik aktivitesi spektrumuna sahiptirler ve sıklıkla penisilin alerjisi olan hastalara uygulanırlar (Etebu ve Ariekpar, 2016).

Makrolidler, bakteriyel protein sentezini etkili bir şekilde inhibe ederek mikroorganizmaları öldürür veya inhibe eder. Bunu bakteriyel ribozoma bağlanarak yaparlar ve protein sentezi sırasında polipeptit zincirlerine amino asit eklenmesini önlerler. Makrolidler vücutta birikme eğilimindedir. Ayrıca iltihaplanmaya neden olma kapasiteleri de vardır. Eritromisin, azitromisin ve klaritromisin bu gruba dâhildir (Etebu ve Ariekpar, 2016).



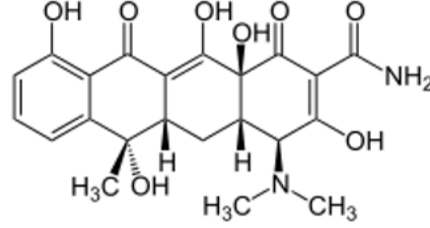
Şekil 7. Makrolid moleküler yapısı (Etebu ve Ariekpar, 2016).

1.2.3.3 Tetrasiklinler

Tetrasiklin 1945'te, Benjamin Duggar tarafından *Streptomyces* cinsinin bir toprak bakterisinden keşfedilmiştir. Bu sınıfın ilk üyesi klorotetrasiklidir (Aureomisin). Bu sınıfın üyeleri dört (4) hidrokarbon halkasına sahiptir ve “-siklin” son eki ile isimlendirilirler (Şekil 8) (Etebu ve Ariekpar, 2016).

Tarihsel olarak, bu sınıftaki antibiyotiklerin üyeleri, sentez yöntemine dayanarak farklı nesillere gruplandırılır. Sentez ile elde edilenlerin birinci nesil olduğu söylenir. Birinci nesil tetrasiklinler; tetrasiklin, klortetrasiklin, oksitetrasiklin ve demeklosiklidir. Doksisiklin, lymesiklin, demeklosiklin, metasiklin, minosiklin ve rolitetrasiklin gibi üyeler ikinci nesil olarak kabul edilir çünkü bunlar yarı sentezin türevleridir. Tigesiklin gibi tamamen sentezden elde edilenler üçüncü nesil olarak kabul edilir. Tetrasiklinlerin bakterilerde antimikrobiyal aktivitelerinin hedefi ribozomdur. Bu bakteriyel organelde

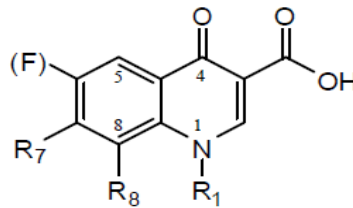
protein sentezi sırasında polipeptit zincirlerine amino asitlerin eklenmesini engeller (Etebu ve Ariekpar, 2016).



Şekil 8. Tetrasiklin moleküler yapısı (Etebu ve Ariekpar, 2016).

1.2.3.4 Kinolonlar

Kinolonlar, ilk olarak antimalaryal ilaçların araştırılmasında yer alan bilim adamları tarafından nalidiksik asit olarak keşfedilmiştir. Nalidiksik asit, 60'lı yılların başında kinin gelişimi sırasında bir kirlilik olarak keşfedilmiştir. Bakterilerde DNA replikasyonu ve transkripsiyonunu engelleyebilirler. Bazik molekülden iki ana bileşik grubu geliştirilmiştir: kinoksinler, norfloksasin, ofloksasin, siprofloksasin, temafloksasin, sparfloksasin, nalidiksik asit, enoksasin vb. içeren kinolonlar ve naftiridonlar. Yapıları genellikle iki halkadan oluşur, ancak yeni kinolon kuşakları, bazı bakterilere, özellikle de kinolona karşı dirençli olan anaerobik bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite spektrumlarını genişletmelerini sağlayan ilave bir halka yapısına sahiptir (Şekil 9) (Etebu ve Ariekpar, 2016).



Şekil 9. Kinolonun moleküler yapısı (Asif, 2015)

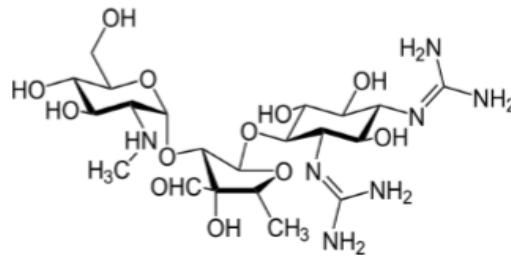
Kinolonların temel yapısındaki modifikasyonların biyoyararlanımını arttırdığı ve hem aktivite spektrumlarını hem de gücünü arttırdığı bildirilmiştir. Bu kayda değer başarılarla rağmen, bu sınıf antibiyotiklerin bazı üyeleri ile hala güvenlik kaygıları mevcut olup, bu kaygılar piyasadan kinolonlarına sınıfına ait olan grepafloksasin, sparfloksasin,

temafloksasin, trovafloksasin gibi antibiyotiklerin çekilmesine yol açmıştır (Etebu ve Ariekpar, 2016).

1.2.3.5 Aminoglikozitler

Aminoglikozitlerin üyeleri arasında keşfedilen ilk ilaç 1943'te izole edilen streptomisin olmuştur. Streptomisin, insanlar arasında tüberkülozun etkeni olan *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı büyük ölçüde kullanılmıştır. Aminoglikozitler, glikozidik bağlarla bağlanan 3-amino-şekerlerden oluşan bileşikleridir (Şekil 10) (Etebu ve Ariekpar, 2016).

Aminoglikozit geniş bir antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Ribozomal alt birimlerden birine bağlanarak bakterilerdeki protein sentezini inhibe edebilirler. Aerobik Gram negatif çubuklara ve bazı Gram pozitif bakterilere karşı etkilidirler. Daha önce bilinen en eski aminoglikozit, bubonik veba, tularemi ve tüberkülozun tedavisinde ayrı ayrı kullanılan streptomisindir. Geniş bir enfeksiyon dizisine karşı etkinliğine rağmen, streptomisinin oldukça toksik olduğu bulunmuştur. Bakterilere karşı etkili olan ilaç, talihsiz bu özelliği nedeniyle insanlar için daha az toksik olan yeni aminoglikozit üyelerinin keşfedilmesine neden olmuştur. Gentamisin, neomisin, tobramisin ve amikasin gibi antibiyotikler elde edilmiştir. Gentamisin daha az toksiktir ve Gram negatif çubukların (*Escherichia*, *Pseudomonas*, *Shigella* ve *Salmonella*) neden olduğu enfeksiyonlarda yaygın olarak kullanılır. Tobramisin, özellikle, kistik fibrozlu hastalarda *Pseudomonas* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır (Etebu ve Ariekpar, 2016).



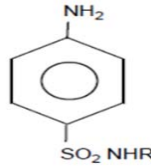
Şekil 10. Streptomisin moleküler yapısı (Etebu ve Ariekpar, 2016).

1.2.3.6 Sülfonamidler

Sülfonamidler, tedavi edici ilaçlarda kullanılan ilk antibiyotik grubu olduğu ve halen tıp ve veterinerlik uygulamalarında çok önemli rol oynadıkları bildirilmektedir. Sülfonamidler *Nocardia*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella* ve *Enterobacter*, *Chlamydia trachomatis* ve bazı Protozoa türlerini inhibe eder, bademcik iltihabı, septisemi, meningokokal menenjit gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisinde de yaygın olarak kullanılırlar. Orijinal antibakteriyel sülfonamid, sülfonamid grubunu içeren sentetik antimikrobiyal maddelerdir (Şekil 11) (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Sülfonamidlerin genellikle bakterisidalen ziyade bakteriyostatik olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, Henry (1943), çalışmalarının neticesinde sülfonamidlerin konsantrasyonları yeterince yüksekse veya herhangi bir sülfonamid konsantrasyonunun varlığına bakteri için uygun olmayan diğer çevresel koşulların eşlik etmesi durumunda bakterisidal olabileceğini düşünmüştür (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Sülfonamidler çeşitli hastalıkların ve enfeksiyonların tedavisinde iyi ve etkili bir şekilde kullanılmasına rağmen, bazıları idrar yolu rahatsızlıkları, hemolitik anemi, porfiri ve aşırı duyarlılık reaksiyonlarında toksisiteleri ve yan etkileri nedeniyle dikkatle tavsiye edilir ve uygulanır (Etebu ve Arikekpar, 2016).

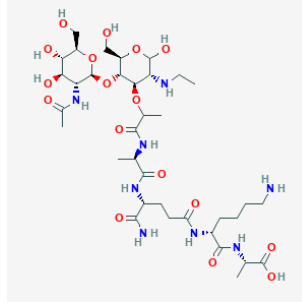


Şekil 11. Sülfonamid moleküler yapısı (Etebu ve Arikekpar, 2016).

1.2.3.7 Glikopeptidler

Glikopeptid antibiyotikler genel olarak doğal olarak elde edilmiş, ancak son 20 yılda gelişmiş aktivite ve farmakokinetik özelliklere sahip yarı sentetik türevleri ortaya çıkmıştır. Doğal olarak, glikopeptidler 7 amino asitli bir siklik peptitten oluşur, bunlara 2 şeker bağlanır, dolayısıyla glikopeptidler ismini alır (Şekil 12). Antibiyotiğin hedefine bağlanması, ilacın peptidik omurgası ile 5 hidrojen bağının oluşturulmasıyla

gerçekleşir. Bazen, sentez sırasında ilacın omurgasına (oritavansin’de olduğu gibi) ek bir klor ve/veya şeker eklenir. Bu gibi ek moleküllere sahip olan ilaçların, hedefe daha fazla etkinlikle bağlanabileceği bilinmektedir. Benzer şekilde, bir lipofilik yan zincir, antibakteriyel gücü ve glikopeptidlerin yarı ömrünü uzatır (Etebu ve Arikekpar, 2016).

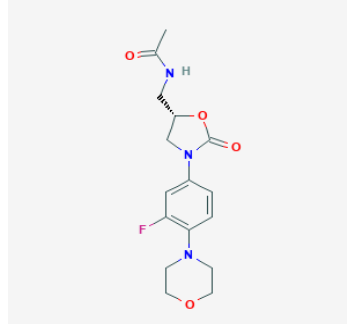


Şekil 12. Glikopeptid moleküler yapısı (URL-1)

1.2.3.8 Oksazolidinonlar

Oksazolidinonlar, son zamanlarda kullanım için onaylanmış bir grup sentetik antibiyotiktir (Şekil 13). Sentezlenen ilk üyesi olan linezolid, 2000 yılında klinik uygulama için onaylanmıştır. Oksazolidinonun etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılmamış olsa da, bunların protein sentezine müdahale ettiği bildirilmiştir. Oksazolidinonlar, ribozomal 50S alt ünitesinin P bölgesine bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Metisilin ve vankomisine dirençli stafilokok, vankomisine dirençli enterokoklar, penisiline dirençli pnömokoklar ve anaeroblar dâhil olmak üzere Gram pozitif bakterilere karşı geniş bir aktivite spektrumu vardır (Etebu ve Arikekpar, 2016).

Linezolid, Gram pozitif bakteriyel patojenlerin neden olduğu solunum yolu ve cilt enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Oksazolidinonlar, cerrahi enfeksiyonlarla uğraşırken tercih edilen ilaçtır. Çünkü kemik, akciğer, hematoma ve beyin omurilik sıvısı gibi dokulara kolaylıkla nüfuz eder ve biriktirilebilirler. Linezolid uygulamasının normal standart rutinlerine uymak genellikle güvenli olmakla birlikte, tedavinin uzaması durumunda sıklıkla anemi ve trombositopeni ile sonuçlanan miyelosüpresyon gibi yan etkilere rastlanmaktadır (Etebu ve Arikekpar, 2016).



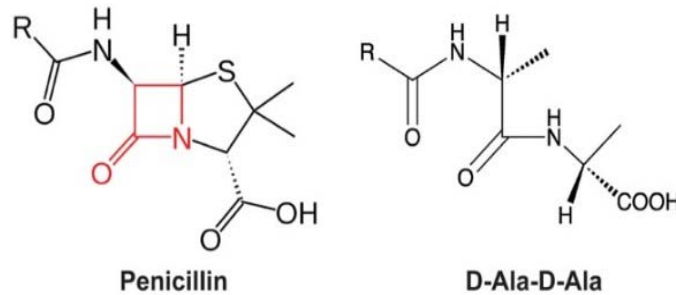
Şekil 13. Linezolid moleküler yapısı (URL-2)

1.2.4 Antibiyotiklerin Etki Mekanizmasına Göre Sınıflandırılması

1.2.4.1 Hücre Duvarını Hedefleyen Antibiyotikler

Bakteriyel hücreler, uzun şeker polimerlerinden oluşan peptidoglikandan yapılmış bir hücre duvarı ile çevrelenmiştir. Peptidoglikan, transglikosidazların etkisi ile oluşan glikan iplikçiklerindeki şekerlere bağlı peptid zincirlerinin çapraz bağlanması ile oluşur. Peptid zincirinin D-alanin-alanin kısmı, penisilin bağlayan proteinlerin (PBP'ler) varlığında glisin kalıntıları ile çapraz bağlanır. Bu çapraz bağlantı, hücre duvarını güçlendirir. β -laktamlar ve glikopeptidler hücre duvarı sentezini inhibe eder (Kapoor ve ark., 2018).

β -laktam ajanlarının birincil hedefleri PBP'lerdir. β -laktam halkasının normalde PBP ile bağlanan peptid zincirinin D-alanin-alanin kısmını taklit ettiği varsayılmıştır. PBP, β -laktam halkası ile etkileşir ve yeni peptidoglikanın sentezini katalizleyemez. Peptidoglikan tabakasının bozulması, bakterilerin parçalanmasını neden olur (Kapoor ve ark., 2018).

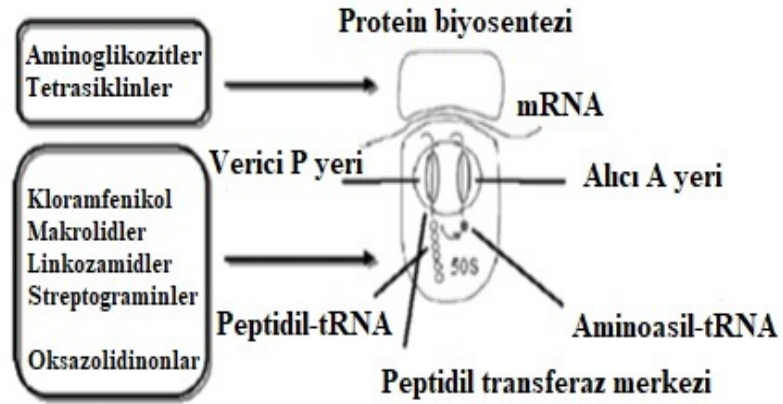


Şekil 14. Penisilin ve D-Ala-D-Ala (Zeng ve Lin, 2013).

Glikopeptidler, öncü peptidoglikan alt biriminin peptid yan zincirinin D-alanin D-alanin bölümüne bağlanır. Büyük ilaç molekülü vankomisin, bu D-alanin alt ünitesinin PBP ile bağlanmasını önler ve dolayısıyla hücre duvarı sentezini inhibe eder (Kapoor ve ark., 2018).

1.2.4.2 Protein Sentezi İnhibitörleri

İlk olarak bakteri DNA'sındaki bilgiler, transkripsiyon olarak bilinen bir işlem olan mesajcı RNA (mRNA) olarak adlandırılan bir RNA molekülünü sentezlemek için kullanılır (Şekil 15). Daha sonra, ribozom olarak adlandırılan makromoleküler yapı, mRNA'da bulunan bilgileri kullanarak ve translasyon denilen bir süreç olan proteinleri sentezler. Protein sentezi ribozomlar ve sitoplazmik faktörlerle katalize edilir. Bakteriye 70S ribozom, 30S ve 50S olmak üzere iki ribonükleoprotein alt ünitesinden oluşur. Antimikrobiyaller, bakteriyel ribozomun 30S veya 50S alt birimini hedefleyerek protein sentezini inhibe eder (Kapoor ve ark., 2018).



Şekil 15. Protein sentez inhibitörlerinin etki bölgesi (Kapoor ve ark., 2018).

Aminoglikozidler 30S alt biriminin 16S rRNA ile etkileşime girerek mRNA'nın yanlış yorumlanmasına ve erken sonlandırılmasına neden olurlar. Tetrasiklin, klortetrasiklin, doksisisiklin veya minosiklin gibi tetrasiklinler, tRNA'nın A bölgesine bağlanmasını önlemek için 30S ribozomal alt biriminin 16S rRNA'sının korunmuş dizileri üzerinde etkilidir (Kapoor ve ark., 2018).

Kloramfenikol, 50S alt ünitesinin 23S rRNA'sının peptidiltransferaz boşluğunun korunmuş dizileri ile etkileşime girer. Bu sayede, tRNA'nın ribozomun A bölgesine bağlanmasını önleyerek protein sentezini inhibe eder (Kapoor ve ark., 2018).

Makrolidler, 50S ribozomal alt biriminin 23S rRNA'sının peptidiltransferaz merkezinin korunmuş sekanslarını hedefleyerek protein sentezinin erken aşamasını, yani translokasyonunu etkiler. Bu, tamamlanmamış peptid zincirlerinin erken ayrılmasına neden olur. Makrolidler, linkozamidler ve streptogramin B'ler benzer etki mekanizması gösterir (Kapoor ve ark., 2018).

1.2.4.3 DNA Replikasyon İnhibitörleri

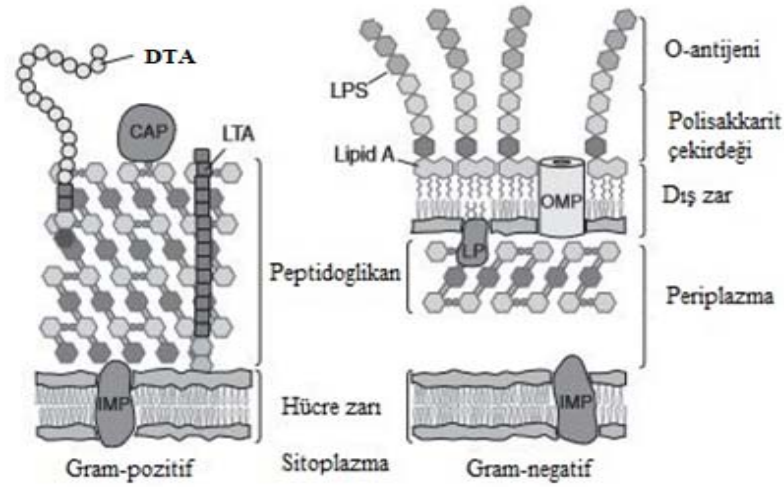
Florokinolonlar (FQ), çift sarmallı DNA'yı tanıyarak, negatif süper sarmal oluşturarak topolojik problemleri gideren bakteriyel DNA girazı inhibe eder. DNA Giraz, replikasyon veya transkripsiyonun gerçekleşmesi için zincirler ayrıldıklarında zincirlerin aşırı pozitif süper sarmal oluşmasını önlemek için gereklidir. DNA giraz, iki A alt birimi ve iki B alt biriminden oluşur. Bir alt birim, DNA'ya bağlanmayı gerçekleştirir, B alt birimi, negatif süper sarmal oluşturur ve daha sonra A alt birimi, zincirleri tekrar oluşturur. Gram pozitif bakterilerde, esas hedef, DNA replikasyonu sonrasında maternal DNA zincirine bağlanan ve zinciri ayıran topoizomeras IV'tür. Bu enzim için daha büyük afinite, Gram pozitif bakterilere karşı daha yüksek etki gücü sağlayabilir. DNA giraz veya topoizomeras IV yerine, memeli hücreleri, FQ'ların çok düşük afinite ile bağlandığı topoizomeras II'ye sahiptir. Dolayısıyla memeli hücrelerinde FQ toksisiteside düşüktür (Kapoor ve ark., 2018).

1.2.4.4 Folik Asit Metabolizması İnhibitörleri

Sülfonamidler ve trimetoprim, her biri folik asit metabolizmasında farklı adımları engeller. Aynı sentez yolunda farklı adımlarda hareket eden sülfonamidler ve trimetoprim kombinasyonu, sinerji ve direnç için azaltılmış mutasyon oranını gösterir. Sülfonamidler, enzim için doğal substrat olan p-amino benzoik asitten daha yüksek afinite ile rekabetçi bir şekilde dihidrofolat redüktazı inhibe eder. Trimetoprim gibi ajanlar folik asit sentezinin daha sonraki bir safhasında etki eder ve dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe eder (Kapoor ve ark., 2018).

1.2.5 Bakteri Hücre Duvarı Yapısı

On yıldan fazla süren tartışmalardan sonra, elektron mikroskobu teknikleri ile Gram negatif hücre duvarının net bir şekilde katmanlı bir yapıya sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Duvarda üç ana katman vardır; dış zar (DZ), peptidoglikan hücre duvarı ve sitoplazmik veya iç zar (İZ). İki membran tabakası, Peter Mitchell'in (1961) periplazm olarak adlandırdığı, sulu bir hücresel bölme sınırlar (Şekil 16) (Silhavy ve ark., 2010).



Şekil 16. Gram-pozitif ve Gram-negatif hücre duvarlarının gösterimi (Silhavy ve ark., 2010).

CAP: ¼ kovalent olarak eklenmiş protein; IMP: integral membran proteini; LP: lipoprotein; LPS: lipopolisakkarit; LTA: lipoteikoik asit; OMP: dış zar proteini; DTA: duvar teikoik asiti.

1.2.5.1 Gram Negatif Hücre Duvarı

Dış Zar

Dışarıdan başlayıp içeriye doğru ilerleyen ilk katman dış membran (DZ)'dir. DZ, Gram negatif bakterilerin ayırt edici bir özelliğidir, Gram pozitif bakterilerde bulunmaz. Diğer biyolojik membranlar gibi, DZ de çift lipit tabakasından oluşur. DZ fosfolipitler içerir; bunlar bu zarın iç yüzeyiyle sınırlıdır. DZ'nin dış yüzeyi, esas olarak lipopolisakkarit (LPS) olan glikolipitlerden oluşmuştur. LPS tehlikeli bir moleküldür. Bunun nedeni Gram negatif organizmaların neden olduğu sepsis ile ilişkili endotoksik şoktan sorumlu olmasıdır (Silhavy ve ark., 2010).

Bazı istisnalar dışında, DZ'nin proteinleri lipoproteinler ve β -varil proteinleri olmak üzere iki sınıfa ayrılabilir. Lipoproteinler, bir aminoterminal sistein kalıntısına bağlı lipit kısımlarını içerir. Genel olarak, bu lipit kısımlarının, DZ'nin iç yüzeyine lipoproteinleri yerleştirdiği düşünülmektedir. *E. coli*'de yaklaşık 100 DZ lipoprotein vardır ve bunların çoğunun işlevleri bilinmemektedir. Neredeyse dış zarın integral, dış zar proteinlerinin tümü bir β -varil konformasyonuna sahiptir. Bu proteinler silindirlere sarılmış β tabakalarıdır ve bu dış zar proteinlerini DZP'ler olarak bilinmektedir. DzpF ve DzpC gibi porinler DZ üzerinde mono ve disakkaritler ve amino asitler gibi küçük moleküllerin pasif difüzyonuna izin vermek için işlev görür. DZ boyunca, maltoz veya maltodekstrinler ve fosfat gibi anyonlar bulunur. DzpA bir diğer DZP'dir, monomeriktir porin olarak işlev görebilir. Daha büyük β -varil olan (20–24 transmembran b şeritleri) başka bir DZP sınıfı, düşük seviyelerde bulunur, demir şelatlar veya B12 gibi vitaminler gibi büyük ligandların taşınımında kapılı kanallar olarak işlev görür (Silhavy ve ark., 2010).

DZ, *E. coli*'nin hayatta kalması için esastır, ancak sadece birkaç enzim içerir. Örneğin, bir fosfolipaz (PldA), bir proteaz (DzpT) ve LPS'yi (PagP) değiştiren bir enzimi vardır. Bu enzimlerin hepsinin aktif bölgesi dış yüzeyinde bulunur veya hücrenin dışına bakar. DZ'nin bilinen tek işlevi, koruyucu bir bariyer görevi görmektir. Dış zar, Gram negatif bakterilerin Gram pozitiflerden daha dirençli olmasına katkı sağlar (Silhavy ve ark., 2010).

LPS, DZ'nin bariyer fonksiyonunda kritik bir rol oynar. Altı veya yedi zinciri, bir polisakarit çekirdeği ve O-antijeni adı verilen uzatılmış bir polisakarit zinciri olan bir glukozamin disakkarittir. Geleneksel olarak patojenik *E. coli*, O-antijeninin antijenik özellikleri ve flagella'nın majör proteini (flagellin, H olarak adlandırılır) bileşeniyle sınıflandırılır. LPS molekülleri, hidrofobik moleküller için çok etkili bir engeldir. Bu, porinlerin yaklaşık 700 Dalton'dan daha büyük hidrofilik moleküllerin difüzyonunu sınırlandırması gerçeğiyle birleştiğinde, DZ'ı çok etkili seçici bir geçirgenlik bariyeri haline getirir (Silhavy ve ark., 2010).

Peptidoglikan

Bakteriler damıtılmış suya konduğunda lizis oluşturmazlar çünkü sert bir dış iskelete sahiptirler. Peptidoglikan, pentapeptit yan zincirleri ile çapraz bağlanan N-asetil

glukozamin-N-asetil muramik asit ünitelerinin tekrar birimlerinden oluşur. Sertliği nedeniyle hücre şeklini belirler. Peptidoglikana zarar veren enzimler veya antibiyotikler gibi ajanlar, sitoplazmanın turgor basıncı nedeniyle hücre lizisine neden olur. Yüksek ozmolariteye sahip ortamlarda parçalanma önlenir. Bununla birlikte, peptidoglikan olmadan hücreler, karakteristik biçimlerini kaybederler. Ortaya çıkan hücrelere sferoplast denir. DZ temel olarak Lpp, murein lipoprotein veya Braun'un lipoproteini olarak adlandırılan bir lipoprotein tarafından peptidoglikana zımbalanır. Bu küçük proteinin amino terminaline bağlanan lipitler (58 amino asit) DZ'ye gömülür. Lpp, *E. coli*'deki en bol bulunan proteindir, hücre başına 500.000'den fazla molekül içerir (Silhavy ve ark., 2010).

Periplazma

DZ ve İZ, periplazma adı verilen sulu bir hücresel bölmeyi sınırlandırır. Periplazma yoğun bir şekilde proteinlerle doludur ve sitoplazmadan daha viskozdur. Hücresel bölümlendirme, Gram negatif bakterilerin RNaz veya alkalın fosfataz gibi potansiyel olarak zararlı bozunma enzimlerini tecrit etmelerini sağlar. Bu nedenle, periplazma, ökaryotik hücrelerin lizozomlarının evrimsel bir öncüsü olarak adlandırılmıştır. Bu bölmede bulunan diğer proteinler, şeker ve amino asit taşıma ve kemotaksis işlev gören periplazmik bağlama proteinlerini ve duvar biyogenezinde işlev gören şaperon benzeri molekülleri içerir (Silhavy ve ark., 2010).

İç Zar

Ökaryotik hücrelerin ayırt edici özelliklerinden biri, hücre içi organellerin varlığıdır. Bu organeller, membranların sınırlandırılmasıyla tanımlanır ve bu organeller, bir dizi temel hücresel işlemi gerçekleştirir. Mitokondri enerji üretir, Granülsüz endoplazmik retikulum (ER) lipitleri sentezler, Granüllü ER'de protein salgılanması meydana gelir ve sitoplazmik membran besin maddeleri ile atık ürünler için taşıma sistemlerinin reseptörlerini içerir. Bakteriler hücre içi organellerden yoksundur ve sonuç olarak, ökaryotik organellerin tüm fonksiyonları İZ'de gerçekleştirilir. Enerji üretiminde, lipid sentezinde, protein salgısında ve taşınmada işlev gören zar proteinlerinin çoğu bakterilerde korunur, ancak hücresel konumları farklıdır. Bakterilerde, bu proteinler İZ'de bulunur. İZ, bir fosfolipit çift tabakasıdır (Silhavy ve ark., 2010).

1.2.5.2 Gram Pozitif Hücre Duvarı

Peptidoglikan

Gram pozitif organizmalarda peptidoglikanın kimyasal yapısı Gram negatifler ile benzerdir, lineer glikan şeritleri oluşturmak için glikozidik bağlar ile bağlanmış tekrar eden disakaritler ve bunların peptid çapraz köprüleri ile bağlanması ile oluşur. Gram pozitif ve Gram negatif peptidoglikan arasındaki en büyük fark, plazma zarını çevreleyen katmanların kalınlığıdır. Gram negatif peptidoglikan sadece birkaç nanometrelik bir kalınlığa sahipken ve bir ila birkaç tabakadan oluşurken, Gram pozitif peptidoglikan 30-100 nm kalınlığındadır ve birçok katman içerir (Silhavy ve ark., 2010).

Gram pozitif organizmalar arasında peptidoglikan yapısının detaylarına göre birçok fark vardır, ancak belki de en belirgin fark, glikan iplikçikleri arasındaki çapraz bağlanma ile ilgilidir. Peptidoglikan yapısı N-asetil muramik aside bağlı peptidin üçüncü amino asidinden uzanan bir pentaglisin dalı ile diğer glikan zincirindeki amino aside bağlandığı çapraz bağları içerir. Bu pentaglisin dalı, FemA, B ve X olarak bilinen bir dizi peptidil transferaz ile birleştirilir (Silhavy ve ark., 2010).

Teikoik Asitler

Teikoik asitler, *Bacillus subtilis* dâhil olmak üzere çok çeşitli Gram pozitif organizmalarda bulunan anyonik hücre yüzeyi polimerleridir. İki tür teikoik asit vardır: peptidoglikana bağlanmış olan duvar teikoik asitleri (DTA'lar) ve hücre zarına tutturulmuş olan lipoteikoik asitler (ZTA'lar). Duvar teikoik asitleri, peptidoglikan içinde ara sıra Mur-NAc kalıntılarının C6 hidroksiline bir fosfodiester bağlantısı yoluyla bağlanır. Yapısal varyasyonlar dikkate değer olsa da, en yaygın DTA'lar, bir poliribitol fosfat (polyRboP) veya poligliserol fosfat eklenmiş bir disakkarit bağlantı biriminden oluşur (Silhavy ve ark., 2010).

ZTA'lar DTA'lara benzer, çünkü D-alanin veya bir şeker kısmı ile fonksiyonel hale getirilmiş olan polyGroP polimerlerinden oluşurlar. ZTA'lar, peptidoglikana bağlanmak yerine, zar içine gömülmüş glikolipidlere tutturulur ve tipik olarak daha az GroP tekrarı içerir (Silhavy ve ark., 2010).

Teikoik asitler anyonik olduklarından katyonları bağlarlar ve böylece katyon homeostazında rol oynarlar. DTA'lar arasındaki metal katyonlarının ağırları da hücre duvarının sertliğini ve gözenekliliğini etkiler. DTA'lardaki negatif yük yoğunluğu, polimer omurgası boyunca pozitif yükler oluşturan modifikasyonlar uyarlanarak modüle edilebilir ve bu modifikasyonlar, bakterilerin diğer hücreler veya moleküller ile etkileşimi üzerinde derin bir etkiye sahip olabilir (Silhavy ve ark., 2010).

1.2.6 β -laktamların Etki Mekanizması

β -laktamın siklik amid halkasının (peptidoglikanın D-alanin-D-alanin dipeptid analogu) penisilin bağlayan proteinin (PBP) aktif bölgesine, substratı olarak bağlanması ve halka açıldığında peptid bağının oluşumunun durdurulması ile hücre duvarı sentezi durur. Hücrenin büyümesi ile oluşan iç basınç artışı hücre duvarı genişlemesini geride bırakarak hücreyi lizise götürür. Hücre lizisi için gerekli aktif protein üretimi, bu dengesiz büyüme hipotezi ile ortaya çıkmaktadır. Otolizinler, peptidoglikan hidrolazlarından biridir ve peptidoglikan tabakalar arasındaki bağları keserler. β -laktamlar ile otolizinler birlikte lizis-bağımlı hücre ölümünü uyardıkları düşünülmektedir. Peptidoglikan hidrolaz aktivitesine tüm bakteriler sahip değildirler. Bu aktiviteye sahip olmayan bakterilerde β -laktamlar lizis bağımlı olmayan hücre ölümüne neden olur. Bunlarda hücre ölümü iki bileşenli bir sistem (VncSR, LytSR) tarafından düzenlenmektedir (Saral, 2015).

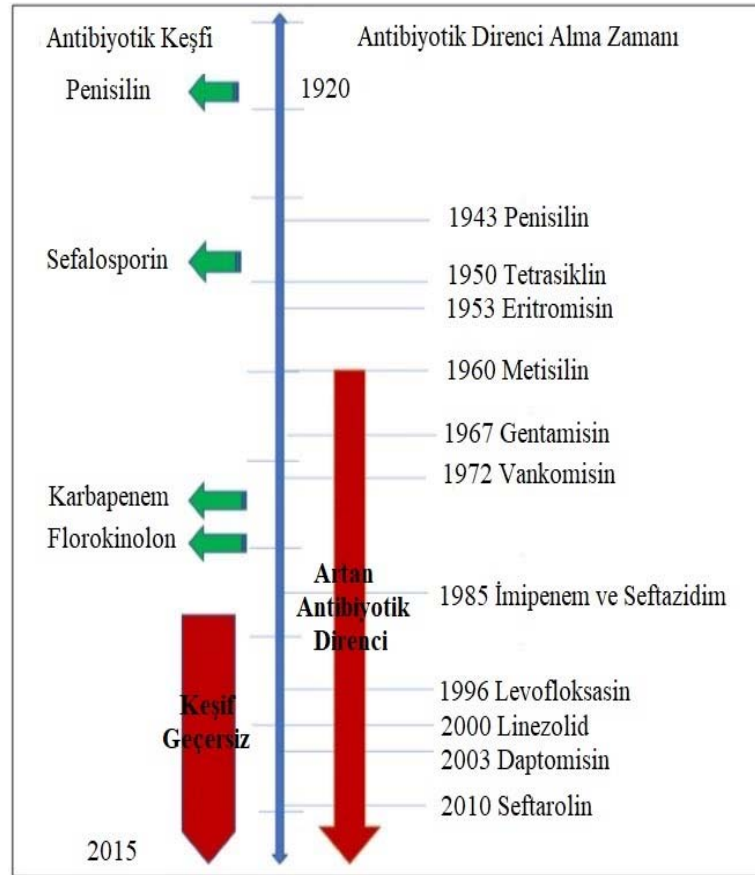
1.2.7 Antibiyotik Direnci

1.2.7.1 Antibiyotik Direncinin Kökeni

Bir ilaç etkili bir şekilde bakteriyel büyümeyi inhibe etme kabiliyetini yitirdiğinde antibiyotik direnci meydana gelir. Bakteriler “dirençli” hale gelir ve antibiyotiklerin terapötik seviyeleri varlığında bile çoğalmaya devam ederler. Bu bakterilere, antibiyotik varlığında bile çoğaldıklarından, dirençli bakteriler adı verilir (Zaman ve ark., 2017).

Yeni antimikrobiyal bileşiklerin kullanılmasından kısa bir süre sonra antimikrobiyal direnç ortaya çıkmıştır (Şekil 17). Antibiyotik direnci, doğanın tüm bakterileri bir dereceye kadar düşük seviyede dirençle güçlendirdiği doğal bir seçim süreci olarak

ortaya çıkabilir. Aslında, enfeksiyonla mücadelede antibiyotik kullanımının başlamasından önce bile direnç rapor edilmiştir. Aminoglikozitlerin üretilmesinden altı yıl sonra, *Staphylococcus aureus*'un aminoglikozit dirençli suşları ortaya çıkmıştır. 1961'de kullanıma sunulan metisilin, penisilnaz üreten *Staphylococcus aureus* suşlarını hedef alan yarı sentetik penisilnaz dirençli penisilinlerin ilkidir. Ancak, metisiline direnç kullanılmaya başlandıktan kısa bir süre sonra bildirilmiştir. 1980'lerde Gram negatif bakteriyel hastalıkların tedavisi için florokinolonlar ortaya çıkarılmıştır. Kinolon direnci, özellikle metisiline dirençli suşlar arasında, kromozomal mutasyonların aşamalı olarak kazanılması olarak ortaya çıkmıştır. Vankomisin dirençli *Staphylococcus aureus*'un (VRSA) klinik izolatları, 2002 yılında vankomisin pazara sunulduktan 44 yıl sonra ortaya çıkmıştır (Zaman ve ark., 2017).



Şekil 17. Antibiyotik direncinin başlangıcının grafik gösterimi (Zaman ve ark., 2017).

Antibiyotik keşif öyküsü (yeşil ok) ve ilk bildirilen antibiyotik direnci zamanı (sağ taraf). Kırmızı ok (aşağı yön), antibiyotik keşfinin olmadığını ve antibiyotik direncini arttığını gösterir. Mavi çizgi zaman akışını gösterir.

Tarımda kullanılan antibiyotikler genellikle klinik olarak kullanılan antibiyotik bileşiklerle aynı veya benzerdir, tarımda aşırı kullanım ilaca direnç de sağlayabilir. Besin zinciri, hayvan ve insan popülasyonları arasında antibiyotiğe dirençli bakterilerin ana iletim yolu olarak düşünülebilir. Bazı gelişmiş ülkelerde, hayvanlar, yiyeceklerinde, suyunda veya parenteral olarak antibiyotik alırlar; bu hayvanlar spesifik antibiyotiğe mikrop direnci taşımaktan sorumlu olabilir. Örneğin, büyükbaş hayvan yemlerinde, büyüme destekleyicileri olarak antibiyotik kullanımı, antibiyotik direncini artırır. Yapılan bir çalışma, kümes hayvanlarının veya domuz etinin, Barcelona'nın kırsal köylerinde, çocukların dörtte birinde tespit edilen kinolona dirençli *E. coli*'nin kaynağı olabileceğini göstermektedir (Zaman ve ark., 2017).

1.2.7.2 Antibiyotik Direncinin Gelişimi

Antibiyotikler bakterileri yok etmek için savaşır. Dolayısıyla, bakteriler direnci teşvik eden doğal bir sürece sahip olma eğilimindedir. Direnç işlemi, gen seviyesi mutasyonları yoluyla gerçekleşir. Antibiyotikler selektif baskıyı indükler ve genler selektif baskıyla ilişkili olarak hareket eder. Bakteriler, plazmitleri transfer ederek genetik materyalleri birbiri arasında direk olarak transfer etme yeteneğine sahiptirler ve bu doğal seleksiyonun direncin gelişmesinde tek mekanizma olmadığını gösterir. Geniş spektrumlu antibiyotikler hastanelerde hastane enfeksiyonları için bir çözüm olarak reçete edilir; ancak, direnci artırır (Zaman ve ark., 2017).

Antibiyotikler genellikle bir kolonideki bakterilerin çoğunu ortadan kaldırabilir. Bununla birlikte, genetik olarak mutasyona uğramış, direnç gösterebilecek farklı bir bakteri kolonisi mevcut olabilir. Antibiyotiğe dirençli enfeksiyon seviyesinin, antibiyotik tüketiminin derecesi ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur. Direnç gelişmesi, kullanıcıların öngörülen antibiyotik tedavisinin tam olarak alamadığında da ortaya çıkabilir. Daha sonra bakteriler, antibiyotiklere karşı daha fazla güçlenerek dokunulmadan kalır. Bakteriler zamanla çoklu direnç özellikleri kazanabilir ve çoklu antibiyotik sınıflarına dirençli olabilir (Zaman ve ark., 2017).

1.2.7.3 Antibiyotik Direncinin Sonuçları

Antibiyotik dirençli organizmalar süper bakteriler olarak bilinir. Bunlar sadece bir laboratuvar sorunu değildir, aynı zamanda yüksek ölüm oranları ve yaşamı tehdit eden

enfeksiyonlardan sorumlu küresel bir tehdittir. Bu enfeksiyonların sonuçları, sivil huzursuzluk, şiddet, kıtlık ve doğal afet gibi durumlarda son derece ağırlaşmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), antibiyotik sonrası bir dönemin sık enfeksiyonlarla sonuçlanacağı ve antibiyotik direncine karşı hareket edemediğimiz takdirde küçük yaralanmaların ölümlerle sonuçlanabileceği konusunda uyarılmıştır. Her yıl tahminen 25.000 hasta Avrupa'daki çoklu ilaç direnci (ÇİD) bakteriyel enfeksiyonları nedeniyle ölmektedir. Birçok ülke klonal yayılma dalgaları olarak nozokomiyal *S. aureus* enfeksiyonlarının yüküyle karşı karşıyadır. Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) türleri hızla yayılmaktadır. Çoklu ilaca dirençli bakteriyel enfeksiyona bağlı tahmini maliyetler ekstra sağlık maliyetleri ve verimlilik kayıplarına neden olabilir. Kanıtlar, artan antibiyotik kullanımının, dirençli mikroorganizma prevalansının daha yüksek olması ile pozitif bir ilişkiye yol açabileceğini, azalmış antibiyotik kullanımının daha düşük direnç oranlarına neden olduğunu göstermektedir. Antibiyotik ile tedavi edilen hastaların antibiyotik direncine sahip olma ihtimalinin daha yüksek olduğuna dair net kanıtlar vardır. Ayrıca, antibiyotiklerin yeniden uygulanması direnç mekanizmalarını hızlandırır. Antibiyotikler, bakterilerin sık veya irrasyonel olarak uygulandığında gelişmeleri için seçici bir baskı sağlar. Bireyler ve devletler antibiyotik direncinin gelişiminde rol oynamaktadır. Örneğin, Klaritromisin tüketimi ve direnci Japonya'da 1993 ve 2000 yılları arasında diğer ülkelere kıyasla dört kat artmıştır (Zaman ve ark., 2017).

1.2.8 Antibiyotik Direnci Mekanizmaları

1.2.8.1 Hedefe Erişimin Önlenmesi

Azaltılmış Geçirgenlik

Gram pozitif türlerle karşılaştırıldığında, Gram negatif bakteriler dış membranları geçirgenlik bariyeri oluşturduğu için birçok antibiyotiğe doğal olarak daha az geçirgendir. Hidrofilik antibiyotikler porin proteinlerinden difüzyon yaparak dış zarı geçer. *Enterobacteriaceae*'lerin çoğunda, *E. coli*'nin dış zarı proteinleri OmpF ve OmpC gibi ana porinlerin spesifik olmayan kanalları olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Direnç, dış zarın geçirgenliğini azaltmak ve bakteriyel hücreye antibiyotik girişini sınırlamak, porinlerin aşağı regülasyonu veya daha seçici

kanallarla porinlerin değiştirilmesiyle sağlanır. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp.* ve *Acinetobacter spp.*'de porin ekspresyonundaki düşüşler, enzimatik degradasyonun aracılık ettiği karbapenemler ve sefalosporinler gibi yeni ilaçlara karşı dirence önemli ölçüde katkıda bulunur. Örneğin, *Enterobacteriaceae*'deki karbapenemlere direnç, porin üretimini azaltan mutasyonlar veya mutant porin allelleri mevcudiyeti ile, karbapenemaz üretiminin yokluğunda oluşabilir. Porin genlerinde ve porin ekspresyonunu düzenleyen genlerde mutasyonların ortaya çıkmasını kolaylaştırmak için uygulanan seçici baskı, karbapenem maruziyetinden sonra *E. coli* ve *Enterobacter spp.*'de bu genlerde mutasyonların hızlı birikimine neden olmuştur. Ek olarak, porin varyantlarını ifade eden *Klebsiella pneumoniae* izolatları, küresel enfeksiyon salgınlarına neden olan klonal suşlarla ilişkilendirilmiştir (Blair ve ark., 2015).

Efluks Pompaları

Bakteriyel efluks pompaları aktif olarak birçok antibiyotiği hücre dışına taşıır ve Gram negatif ve Gram pozitif bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılabilir. Birçok ilaca karşı dirence katkıda bulunur. Aşırı ifade edildiğinde, efluks pompaları önceden klinik olarak yararlı antibiyotiklere karşı yüksek direnç seviyeleri sağlayabilir. Bazı efluks pompaları dar substrat özgülüğüne (örneğin, Tet pompaları) sahiptir, ancak birçoğu yapısal olarak farklı olmayan substratları taşıır ve çok ilaca dirençli (ÇİD) akış pompaları olarak bilinir (Blair ve ark., 2015).

Tüm bakterilerde bulunan iyi çalışılmış ÇİD akış pompaları örnekleri vardır ve antibiyotikleri ihraç eden yeni pompalar açıklanmaya devam etmektedir. 2013-2015 yılı içerisinde bunlara *Streptococcus mutans*'larda MdeA, *Stenotrophomonas maltophilia*'da FuaABC, *K. pneumoniae*'de KexD ve *S. aureus*'ta LmrS dâhil olmuştur. Tüm bakteriler, kromozomları üzerinde ÇİD akış pompalarını kodlayan çok sayıda gen taşımasına rağmen, bazıları plazmitler üzerinde mobilize edilmiştir. Yeni bir üçlü rezistanslı nodülasyon bölünme (RND) pompasını kodlayan genlerin yakın zamanda New Delhi Metallo- β -laktamaz 1 (NDM-1) geni taşıyan bir *Citrobacter freundii* suşundan izole edilen IncH1 plazmidinde taşındığı bulunmuştur. Bu direnç mekanizmasının bulaşabileceğini ve klinik olarak ilgili diğer patojenlere hızla yayılabileceğini gösteren endişe verici bir gelişmedir (Blair ve ark., 2015).

ÇİD akış pompalarının RND ailesi, Gram negatif bakterilerde bulunur. Aşırı eksprese edildiğinde, RND pompaları klinik olarak ilgili ÇİD seviyelerini verir ve çok geniş bir substrat yelpazesini dışa aktarır. İyi çalışılmış örnekler arasında *E. coli*'deki çoklu ilaç efluks pompası AcrB ve *P. aeruginosa*'daki MexB bulunur (Blair ve ark., 2015).

1.2.8.2 Hedefin Değiştirilmesi

Mutasyonla Antibiyotik Hedeflerinde Değişiklikler

Çoğu antibiyotik spesifik olarak yüksek afiniteli hedeflerine bağlanır, böylece hedefin normal aktivitesini önler. Etkili antibiyotik bağlanmasını önleyen, ancak hala hedefin normal işlevini yerine getirmesini sağlayan hedef yapıda yapılan değişiklikler direnç sağlayabilir. Enfeksiyon sırasında sıklıkla büyük ve çeşitli patojen popülasyonları bulunur ve eğer bir antibiyotik hedefi kodlayan gendeki tek bir nokta mutasyonu antibiyotiğe direnç sağlayabilirse, bu mutasyona sahip suşlar çoğalabilir. Bazı antibiyotiklerin hedeflerini kodlayan genler çoklu kopyalarda bulunur; örneğin, linezolid, çoklu kopyası olan gen tarafından kodlanan Gram pozitif bakterilerin 23S rRNA ribozomal alt birimini hedef almaktadır (Blair ve ark., 2015).

Çevreden DNA alımı -“mozaik” genlerin oluşumu yoluyla hedef protein modifikasyonu ile antibiyotik direnci sağlayabilir. Bunun örneği, penisiline direnç sağlayan enzimleri kodlayan mozaik penisilin bağlayıcı protein (PBP) genleri tarafından sağlanan *S. pneumoniae*'deki penisilin direncidir. *N. gonorrhoeae*'deki penA genindeki (bir PBP'yi şifreleyen) mozaiklik, genişlemiş sefalosporinlere karşı yüksek seviyede direnç ile de bağlantılıdır. Pan-dirençli suşların ortaya çıkması ve artık seftriaksonun bu suşlara karşı terapötik bir seçenek olamaması sebebi ile *N. gonorrhoeae* kaynaklı enfeksiyonlar klinik mikrobiyolojideki en büyük zorluklardan biridir (Blair ve ark., 2015).

Hedef değişiminin bir başka örneği, stafilokoksik kaset kromozom mec (SCCmec) elementinin edinilmesidir. Bu element PBP2a'yı şifreleyen mecA genini taşır. PBP2a hücre duvarı biyosentezinin, antibiyotik varlığında inhibe edilen doğal PBP'ye rağmen gerçekleşmesini sağlar. Farklı *Staphylococcus* türlerinde birçok SCCmec elemanı tanımlanmıştır ve mecA alelinin mobilize edildiğine dair kanıtlar vardır (Blair ve ark., 2015).

Mutasyon Olmadan Hedeflerin Değiştirilmesi

Hedefin modifikasyonu, hedef molekülleri kodlayan genlerde mutasyonel bir değişiklik gerektirmeyen etkili bir antibiyotik direnci aracı da olabilir. Son yıllarda, hedeflerin değiştirilmesi birkaç önemli antibiyotik için klinik olarak alakalı bir direnç mekanizması olduğu bulunmuştur; örneğin eritromisin ribozom metilaz (erm) gen ailesi, 16S rRNA'yı metile eder ve ilaç bağlama bölgesini değiştirir, böylece makrolidlerin, linkozamidlerin ve streptograminlerin bağlanmasını önler. Yakın zamanda tanımlanmış bir başka örnekte 23S rRNA'sında spesifik olarak metilleyen kloramfenikol-florfenikol (cfr) metiltransferazdır ve fenikoller, plöromutilin, streptogramin, linkozamid ve oksazolidonon (linezolid dahil) dahil olmak üzere çok çeşitli ilaçlara direnç sağlar. Başlangıçta 1997 yılında sığır stafilokok izolatından izole edilen cfr geni daha sonra *S. aureus* ve *E. coli*'de dâhil olmak üzere Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hayvan ve insanlardan izole edilmiştir. Hem erm hem de cfr genleri genellikle geniş yayılımlarını yönlendirmek için plazmitler üzerinde taşınır. Aminoglikozitler, ribozoma bağlanarak işlev gören protein sentezi inhibitörleridir (Blair ve ark., 2015).

Aminoglikozitlere karşı bir direnç mekanizması, hedef ribozomun metilasyon yoluyla modifikasyonudur. Bunun daha önce klinik olarak ilgili bir direnç mekanizması olduğu düşünülüyordu, ancak sorumlu olan enzimler yakın zamanda birkaç bakteri patojeninde tespit edilmiştir. Örneğin, bir metiltransferazı kodlayan armA geni, Kuzey Amerika, Avrupa ve Hindistan'da *Enterobacteriaceae*'nin klinik izolatlarında bulunmuştur ve başka bir metiltransferazı kodlayan rmt genleri, Kuzey Amerika, Orta ve Güney Amerika'da bulunmuştur (Blair ve ark., 2015).

Kinolon direnç genlerinin (Qnr) familyaları da çeşitli patojenlerde plazmitlerde bulunmuştur. Qnr genleri, kinolonların öldürücü etkisinden topoizomeraz IV ve DNA girazına bağlanan ve bunları koruyan pentapeptid tekrar proteinlerini (PRP'ler) kodlar (Blair ve ark., 2015).

Polimiksin antibiyotikler, polimiksin B ve polimiksin E (aynı zamanda kolistin olarak da bilinir), Gram negatif bakterileri hedef alan uzun, hidrofobik kuyruklu siklik antimikrobiyal peptitlerdir. Son yıllarda alternatif tedavilerin olmayışı nedeniyle, kolistin, çok ilaca dirençli *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* ve *Enterobacteriaceae*

enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmış ve sonuç olarak polimiksin direnci gelişmiştir. Bu direnç genellikle, hedefte değişikliklere neden olan ve ilacın bağlanmasını azaltan LPS üretimini etkileyen düzenleyicilerin ifadesindeki değişikliklerle ilişkilidir. Örneğin, lipid A'yı modifiye eden pmrC'nin aşırı ekspresyonuna neden olan mutasyonlar, iki bileşenli düzenleme sistemi PmrAB'yi şifreleyen genlerde tespit edilmiştir. Bu mutasyonlar, lipid A'ya fosfoetanolin ilave edilmesine neden olur ve bunun sonucunda, LPS95'in negatif yükünün azaltılmasıyla kolistin bağlanması azalır (Blair ve ark., 2015).

Daptomisin spesifik olarak Gram pozitif bakterilerin sitoplazmik membranında anyonik fosfolipidleri hedefler ve kalsiyum iyonlarının varlığında, zara girer ve depolarizasyona ve hücre içi içeriklerin kaybına neden olur. *S. aureus*'ta daptomisin direnci, mprF'deki nokta mutasyonlarının bir sonucu olarak meydana gelebilir, bu da membran yükünü ve fosfolipid bileşimini değiştirir, böylece daptomisin bağlanmasını azaltır (Blair ve ark., 2015).

1.2.8.3 Antibiyotiklerin Doğrudan Modifikasyonu

Kimyasal bir grubun transferiyle antibiyotiğin etkisizleştirilmesidir. Bakteriyel enzimler tarafından antibiyotik molekülü üzerindeki hassas bölgelere kimyasal grupların eklenmesi, antibiyotiğin sterik engelleme sonucu hedef proteinine bağlanmasını önleyerek antibiyotik direncine neden olur. Açıl, fosfat, nükleotidil ve ribitoil grupları dahil çeşitli farklı kimyasal gruplar transfer edilebilir ve sorumlu olan enzimler geniş ve çeşitli antibiyotik dirençli enzimler ailesini oluşturur (Blair ve ark., 2015).

Aminoglikozit antibiyotikler özellikle birçok hidroksil ve amid grubuna sahip büyük moleküller olma eğiliminde olduklarından modifikasyona duyarlıdır. Aminoglikozit değiştirici enzimler, modifiye ettikleri antibiyotiğe (veya antibiyotiklere) yüksek düzeyde direnç sağlar. Üç ana aminoglikozit değiştirici enzim sınıfı vardır: asetil transferazlar, fosfotransferazlar ve nükleotidiltransferazlar. Çin'deki tavuklardan izole edilen *Campylobacter coli*'de yeni bir genomik adanın keşfedilmiştir. Bu genomik ada, üç sınıfın üyeleri de dahil olmak üzere altı aminoglikozit modifiye edici enzimi kodlar ve birkaç aminoglikozit antibiyotiğine direnç sağlar (Blair ve ark., 2015).

1.2.8.4 Hidroliz

Pek çok antibiyotik, bütünlüğü biyolojik faaliyet için gerekli olan hidrolitik olarak duyarlı kimyasal bağlara (örneğin esterler ve amitler) sahiptir. Öyleyse şaşırtıcı olmayan bir şekilde, bu hassas bağları hedeflemek ve hidroliz etmek için gelişen ve bunun sonucunda antibiyotik aktivitesinin yok edilmesine yönelik bir araç sağlayan birkaç enzim örneği vardır. Bunların başında penisilinin β -laktam halkasını ve sefalosporin ilaç sınıflarını hidroliz eden amidazlar vardır. Ayrıca, makrolid ve fosfomisin direncine neden olan epoksidazlar, makrolid esterazlar mevcuttur (Wright, 2005).

β -Laktamaz

Muhtemelen literatürde bildirilen ilk antibiyotik direnç mekanizması, patojenik *E. coli* tarafından penisilinaz üretimidir. O zamandan beri, β -laktamazların çalışılması üzerine yoğunlaşmış ve bu geniş enzim ailesinin ayrıntılarını anlatan çok sayıda çalışma yapılmıştır (Wright, 2005).

β -laktamazların penisilinlerin ve sefalosporinlerin β -laktam halkasını hidrolitik olarak parçalanması için kullandıkları iki ana moleküler strateji vardır: aktif bir bölge olan Ser nükleofilinin etkisi veya suyun bir Zn^{+2} merkezi vasıtasıyla aktivasyonu yolu. Ser- β -laktamazlar veya metalo- β -laktamazlar, amino asit dizileri, substrat tercihleri ve inhibitör duyarlılıklarına göre alt gruplara ayrılabilir. Bush ve arkadaşlarının β -laktamazları substrat tercihleri ve inhibitör duyarlılıklarına göre 4 gruba ayırmıştır. Grup 1, 2 ve 4, Ser- β -laktamazlardır; grup 3'ün üyeleri ise metallo- β -laktamazdır. Grup 1, β -laktamaz inhibitörü klavulanik asit tarafından zayıf şekilde inhibe edilen sefalosporinazlardan oluşur; Grup 2, klavulanik aside duyarlı penisilinazlardan oluşur ve Genişlemiş spektrumlu β -laktamazları (GSBL'ler) içerir; ve Grup 4, klavulanik asit tarafından inhibe edilen ve diğer kategorilere uymayan β -laktamazlardan oluşur (Wright, 2005). Ambler sınıflandırması, korunmuş ve ayırt edici amino asit motiflerine göre β -laktamazları dört moleküler sınıfa (A, B, C ve D) ayırır. A, C ve D sınıflarındaki enzimler, aktif bölgelerinde serin bulundurur ve bir açıl enzim oluşturarak substratlarını hidrolize ederken, B-sınıfı, β -laktam hidrolizini kolaylaştırmak için aktif bölgelerinde en az bir çinko iyonu kullanan metalloenzimleri içerir (Bush, 2010).

Makrolid Esterazları

Eritromisin gibi makrolid antibiyotikler, ribozomun büyük alt biriminin peptid çıkış tüneline bloke eder ve sonuç olarak protein sentezini engeller. Makrolidler, bir ester bağı ile siklize edilir. Bu nedenle, bu anahtar bağı, makrolid direnç enzimleri tarafından hedeflenmiş olması şaşırtıcı değildir. 1984 yılında, ilk eritromisin esteraz *E. coli*'nin makrolid dirençli bir izolatından rapor edilmiştir. EreA geninin klonlanması, 44.8 kDa'lık 406 amino asitlik bir proteini kodlayan bir dizi ortaya çıkarmıştır. Daha sonra, bir başka ortolog, EreB, başka bir *E. coli* izolatından klonlanmıştır. ereB'nin (48.2 kDa) 419 amino asitten oluştuğu ve EreA'ya %23 benzer olduğu tahmin edilmektedir (Wright, 2005).

Yaygın bir ilaç direnç mekanizması olmasa da, eritromisin esterazların varlığı, *E. coli*'de çok yüksek direnç seviyelerine neden olur. *Providencia stuartii* izolatındaki sınıf 1 integronda bulunmuştur. Bu genlerin mobil genetik elemanlar üzerindeki varlığı, mikrobiyal toplulukta yaygınlaşma kabiliyetini ifade eder ve esterazların varlığı, *S. aureus*'un en az bir klinik izolatında ve *Pseudomonas spp.*'nin çevresel izolatlarında doğrulanmıştır (Wright, 2005).

Epoksidazlar

Epoksit antibiyotik olan fosfomisin, hücre duvarı peptidoglikanın esansiyel şeker yapı taşlarından biri olan N-asetilmuramik asidin sentezi için gerekli olan temel bir gen olan MurA enzimini kovalent olarak değiştirir. Bu antibiyotiğe enzimatik direnç, reaktif epoksidazlar, tiyol içeren ortak bir substrat veya suyla halka açılması sonucunda imha edilmesi yoluyla oluşur. Diğer bir mekanizma, fosX enzimi tarafından gerçekleştirilir (Wright, 2005).

1.2.9 β -Laktamaz Gruplarının Tanımları

1.2.9.1 Sefalosporinazlar

Grup 1 / Sınıf C sefalosporinazlar, bu enzimleri üreten organizmaların sayısına göre fazla bulunan β -laktamazlar arasındadır. Genellikle türlere özgü AmpC enzimleri olarak adlandırılan bu sefalosporinazlar, çoğu *Enterobacteriaceae*'de kromozomal

enzimler olarak bulunur. Düşük üretim seviyelerinde, sefalosporinlerin antibakteriyel aktivitesini ortadan kaldıracakları ve özellikle yüksek seviyelerde üretildiklerinde diğer β -laktamlara karşı etkin olmayan aktivite gösterebilirler. Bu enzimler genellikle düşük (bazal) bir seviyede bulunur, ancak amoksisilin veya klavulanik asit gibi seçilmiş indükleyici ajanların varlığında yüksek seviyelere indüklenebilir. Sefalosporinazlar bir indüktör yokluğunda da çok yüksek seviyelerde üretilebilir (Bush, 2010).

İndüklenebilir bir AmpC sefalosporinaz üreten organizmaların tedavisi bazı tartışmalara yol açmıştır. Bir grup araştırmacı, herhangi bir indüklenebilir AmpC barındıran *Enterobacteriaceae*'nin tüm üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli olarak kabul edilmesini önermesine rağmen, bu öneriyi destekleyen klinik veriler çelişkilidir. Örneğin, AmpC β -laktamaz üretebilen *Enterobacteriaceae* ile enfekte olmuş 732 hastanın 18 aylık bir çalışmasında (2005-2006), geniş spektrumlu sefalosporinlerle tedavi hastaların %5'inde (11/218), sefepim ile tedavi edilen hastaların (0/20) % 0'ında dirençle sonuçlanmıştır (Bush, 2010).

Çalışmalar, terapötik değerlendirilmenin, indüklenebilir bir AmpC enziminin varlığından ziyade spesifik sefalosporin MİK'lerine dayanarak yapıldığını göstermiştir. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Wayne, PA, ABD), *Enterobacteriaceae*'ye karşı sefotaksim, seftriakson ve seftazidime duyarlılık sınır değerlerini düşürmüştür. Düşük sınır değerler, geniş spektrumlu sefalosporinlerle yapılan tedavinin ardından dirençli suşlar olarak ortaya çıkmasını engellemelidir ve duyarlı mikroorganizmaların sefalosporinlerle tedavisine izin vermelidir. Yeni sefalosporin sınır değerleri ayrıca, onaylanmış terapötik dozlara farmakodinamik olarak cevap vermeyecek olan GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'ye dirençli olarak sınıflandırılacak, böylece epidemiyolojik amaçların haricinde spesifik GSBL testlerine duyulan ihtiyacı azaltacaktır (Bush, 2010).

1.2.9.2 Penisilinazlar

Yaygın penisilinazlar (fonksiyonel grup 2b, moleküler sınıf A) *Klebsiella pneumoniae*'deki SHV-1 enzimini ve birçok *Neisseria gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenzae* suşunda bulunan TEM-1 β -laktamazı içerir. Bu iki enzim, sefotaksim ve

seftazidim gibi geniş spektrumlu sefalosporinlerin kullanılmasından önce *Enterobacteriaceae* arasında yüksek oranda görülmüştür. Grup 2b enzimleri, klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam tarafından kolayca inhibe edilir. Sonuç olarak, tek bir penisilinaz üreten organizmaların neden olduğu enfeksiyonlar, amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin-sulbaktam veya piperasilin-tazobaktam gibi bir β -laktam/ β -laktamaz inhibitör kombinasyonu ile kolayca tedavi edilebilir (Bush, 2010).

1.2.9.3 Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar

Endişe verici β -laktamazlar geniş spektrumlu β -laktamazlar veya GSBL'ler arasında bulunur (fonksiyonel grup 2be veya moleküler sınıf A). GSBL'ler başlangıçta SHV-1 veya TEM-1 β -laktamazın varyantları olarak tanımlanmış, bunlar genellikle SHV-1 veya TEM-1'den sadece bir veya iki amino asit ile farklılaşmıştır. 1980'lerin sonunda Avrupa ve ABD'de görüldükten sonra, GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlar sefalosporin dirençli etkenlerin neden olduğu enfeksiyonların ana salgınlarıyla ilişkili hale geldiler. Bu enzimleri kodlayan genler genellikle çoklu antibiyotik sınıflarına direnç kazandıran ve türler arasında kolayca aktarılabilen plazmitlerde bulunur (Bush, 2010).

GSBL'ler hala β -laktam direnci salgınları ile ilişkilidir. Bununla birlikte, SHV ve TEM varyantlarının yerini büyük ölçüde GSBL CTX-M familyası almıştır. İlk olarak iki CTX-M enzimi, Batı Avrupa ve Güney Amerika'daki klinik izolatlarda 1990'ların başlarında yaklaşık olarak aynı anda tanımlanmıştır. On yıl içinde, CTX-M β -laktamazları, birçok tıp merkezinde, dünyadaki TEM ve SHV kaynaklı GSBL'lerin yerine baskın GSBL ailesi haline gelmiştir (Bush, 2010).

CTX-M enzimlerinin ABD'de ortaya çıkması yavaş başlamıştır ancak son zamanlarda bazı ABD sağlık merkezlerinin GSBL popülasyonlarına hükmetmeye başlamıştır. 2007 yılında MYSTIC (Meropenem Yıllık Duyarlılık Testi Bilgi Toplama) izleme çalışması, araştırmalarında GSBL üreten izolatlar bildiren ABD tıp merkezlerinin % 80'inde CTX-M genlerini tespit etmiştir. CTX-M üreten izolatlar sefotaksime ve seftriaksona karşı dirençli ancak seftazidime duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, CTX-M ailesinin bazı üyeleri, tek amino asit mutasyonlarının bir sonucu

olarak genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin tümü için yüksek hidroliz oranları sergilemekte, bu da CTX-M üreten patojenlerin tamamında sefalosporin direncine neden olmaktadır. CTX-M ailesinin ortaya çıkışındaki bölgesel farklılıklar, ABD ve Kanada'da seftazidimin daha sık kullanılmasına karşın Avrupa ve Güney Amerika'da sefotaksim veya seftriakson kullanımının daha fazla olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Bush, 2010).

1.2.9.4 OXA β -Laktamazlar

“Okzasilinaz” β -laktamaz ailesi, OXA enzimlerini içerir ve bu enzimler oksasilin (veya kloksasilini hidrolize etme) hidroliz edebilmektedir. Son zamanlarda, OXA enzimlerinin çok önemli bir alt grubu, *Acinetobacter spp.* gibi fermentatif olmayan bakterilerde karbapenem duyarlılığını azaltmak için nedensel bir faktör olarak tanımlanmıştır. Her ne kadar bu enzimler yapısal olarak eski OXA β -laktamazlarla ilişkili olsa da, OXA ailesinin bu yeni üyeleri karbapenem-hidrolize edici aktiviteye sahiptir. Hidroliz hızları, diğer karbapenemazlara kıyasla yavaş olabileceğinden, tam karbapenem direnci, bir porin mutasyonu veya yukarı regüle edilmiş bir efluks pompası gibi ek bir direnç mekanizması gerektirebilir (Bush, 2010).

1.2.9.5 Serin Karbapenemazlar

Ortaya çıkan bir başka β -laktamaz ailesi, serin karbapenemaz grubudur (grup 2f/ sınıf A). Bu enzim grubu, enzimin aktif bölgesinde serin olan diğer tüm β -laktamazlar tarafından hidrolize karşı genel olarak stabil olan karbapenemler dahil olmak üzere çoğu β -laktam antibiyotiklerin hidrolize edilmesi yeteneğine sahiptir. Bu kromozomal enzimler grubunun ilk raporları, ABD ve Londra'nın batısındaki *Enterobacteriaceae* izolatlarından ve on yıl sonra da Boston ve Şikago'daki küçük salgınlardan bildirilmiştir. Plazmid aracılı serin karbapenemaz KPC ABD'nin orta Atlantik bölgesinden, *Klebsiella* izolatlarında (1990'ların sonlarından itibaren) rapor edilmiştir. Bununla birlikte, KPC üreten *K. pneumoniae* türleri, kısa süre sonra New York, daha sonra İsrail, Fransa ve şimdi Güney Avrupa, Güneydoğu Asya ve Güney Amerika da dâhil olmak üzere dünyanın birçok bölgesine yayılmaya başlamıştır. KPC enzimlerini kodlayan genler diğer *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinde ve *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter spp.*'de tespit edilmiştir (Bush, 2010).

1.2.9.6 Metallo-β-Laktamaz

Metallo-β-laktamazlar (fonksiyonel grup 3 / moleküler sınıf B), başlangıçta çoğu tıbbi merkezde genel dirence sınırlı katkıları olan β-laktamazlar olarak kabul edilmiştir. Bu çinko bağımlı kromozomal enzimler, penisilin ve sefalosporinler için genellikle daha yüksek hidroliz oranlarına sahip olan diğer β-laktamazlarla aynı suşta ortaya çıkmıştır. Her ne kadar bu enzimler monobaktamlar (aztreonam) hariç tüm β-laktamlara karşı nispeten zayıf β-laktamaz aktivitesine sahip olsa da, ayırt edici özellikleri karbapenemleri hidrolize etme kabiliyetleridir. Başlarda MBL'ler, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas spp.*, *Bacteroides fragilis* popülasyonu gibi organizmalarda karbapenem direncinden sorumluydu. Bununla birlikte, 1990 yılında bir plazmid kodlanmış MBL olan IMP-1'in tanımlanması, grup 3 metallo-β-laktamazlar üzerine bakış açısını değiştirmiştir. Plazmid aracılı karbapenem direnci şimdi Güney Avrupa, Japonya, Brezilya ve Asya gibi dünyanın bazı bölgelerinde ciddi bir klinik sorun haline gelmiştir. Bu enzimler, *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* gibi fermentatif olmayan bakterilerde ilk olarak tanımlanmış, ancak şimdi *Enterobacter spp.*, *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella spp.* ve *Serratia marcescens*'te de tespit edilmiştir (Bush, 2010).

1.2.10 Enfeksiyon Hastalıkları ve Antibiyotik Direnci

Enfeksiyonlara dirençli mikroorganizmalar neden olabilir. Dirençli mikroorganizmalar genellikle uzun süreli hastalıklara, daha yüksek sağlık harcamalarına standart tedavilere cevap vermede başarısızlıklara, daha fazla ölüm riskine neden olurlar. Aynı ve dirençli olmayan bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonlara kıyasla, hastaların ölüm oranı iki kat daha yüksek olabilir (Fymat, 2017).

Antimikrobiyal direnç, tedavinin etkinliğini azaltarak bulaşıcı hastalıkların kontrolünü engeller. Bu nedenle, hastalar dirençli mikroorganizmaların başkalarına yayılma riskini artırarak daha uzun süre bulaşıcı kalmalarına neden olurlar. Enfeksiyonlar birinci basamak ilaçlara karşı direnç kazandığında, daha pahalı tedaviler kullanılmalıdır. Genellikle hastanelerde daha uzun bir hastalık ve tedavi süresi, sağlık hizmeti maliyetlerini ve aynı zamanda aileler ve toplumlar üzerindeki ekonomik yükü artırır. Enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisi için etkili antimikrobiyaller olmadan

organ nakli, kanser kemoterapisi ve büyük cerrahi işlemlerin başarısı tehlikeye girer (Fymat, 2017).

Ek olarak, küresel ticaret ve seyahatin büyümesi, dirençli mikroorganizmaların uzak ülkeler ve kıtalara insanlar ve yiyecekler yoluyla hızla yayılmasını sağlar. Tahminler, anti-mikrobiyal direncin Gayri Safi Yurt İçi Hasıla'da %1'den daha fazla kayıplara neden olabileceğini ve toplumu etkileyen dolaylı maliyetlerin doğrudan sağlık harcamalarının 3 katından fazla olabileceğini göstermektedir. Gelişmekte olan ekonomileri gelişmiş ekonomilerden daha fazla etkiler (Fymat, 2017).

1.2.10.1 Gram Negatif Bakterilerle İlişkili Enfeksiyonlar

Gram pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar, 1950'lerin sonlarından önceki ciddi enfeksiyonların çoğunu temsil ediyordu. Bununla birlikte, ilişkili hastalıkları tedavi etmek için penisilin kullanımının artmasının, stafilokoklarda ve daha sonra Gram negatif bakterilerde β -laktam direncinin ortaya çıkmasına neden olması şaşırtıcı değildir. Penisilinlerin çoğu hastalık durumu için monoterapi olarak yararlarını yitirdiğinde, β -laktam antibiyotiklerin olumlu klinik özelliklerini korumak için daha etkili olan penisilin ve sefalosporinler geliştirilmiştir (Bush, 2010).

Gram-negatif patojenlerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan en yaygın β -laktam antibiyotikleri arasında seftriakson ve sefepim gibi geniş spektrumlu sefalosporinler, amoksisilin-klavulanik asit ve piperasilin-tazobaktam inhibitör kombinasyonları ile karbapenemler bulunmaktadır (Tablo 1). Enfeksiyon tipleri, otitis media gibi komplike olmayan toplum kaynaklı enfeksiyonlardan, pnömoni de dahil olmak üzere ciddi hastane enfeksiyonlarına kadar uzanmaktadır. Amoksisilin-klavulanik asit ve sefiksim, sefpodoksim ve sefuroksim aksetil gibi oral yolla verilen β -laktamlar toplum kaynaklı enfeksiyonlar için önerilmektedir (Bush, 2010).

Sefalosporinlere dirençli olmayan nozokomiyal enfeksiyonlarda, etkili olabilecek parenteral ilaçlar, enjekte edilebilir penisilin- β -laktamaz inhibitör kombinasyonlarını ve sefalosporinleri içerir. Karbapenemler, çoğu ilaca dirençli patojenin yol açtığı en ciddi enfeksiyonları tedavi etmek için genellikle saklanır, çünkü en azından diğer β -laktam ailelerini etkileyen yaygın β -laktam direnç mekanizmalarından bazılarında kaçabilirler (Bush, 2010).

Tablo 1. Gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için monoterapi olarak kullanılabilen yaygın β -laktam antibiyotikler (Bush, 2010).

Enfeksiyon tipi	Fenotip	Olası β -laktam antibiyotikler
Bakteriyel menenjit	Yabanil tip	Sefotaksim veya seftriakson, sefepim, meropenem
Karın içi enfeksiyonlar	Yabanil tip	Amoksisilin-klavulanik asit, piperasilin-tazobaktam, tikarsilin-klavulanik asit, sefoksitin, sefotetan
	GSBL üreten	Karbapenemler
Kemik iliği iltihabı	Yabanil tip	Seftazidim, sefepim
Orta kulak iltihabı	Yabanil tip	Amoksisilin \pm klavulanik asit, sefdinir, sefpodoksim, sefprozil, sefuroksim aksetil, seftriakson
Alt solunum yolu enfeksiyonları ve zatürree	Yabanil tip	Amoksisilin-klavulanik asit, piperasilin-tazobaktam, tikarsilin-klavulanik asit, aztreonam, sefdinir, sefpodoksim, sefprozil, seftriakson aksetil, sefotaksim, seftriakson, seftazidim
	GSBL üreten	Karbapenemler
Bel soğukluğu	β -laktamaz üretmeyen	Penisilin G
	β -laktamaz üreten	Sefiksim, sefpodoksim, seftriakson, sefotaksim, sefuroksim
Cilt ve cilt yapısı	Yabanil tip	Karbapenemler
		Ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, tikarsilin-klavulanik asit
İdrar yolu (komplike)	Yabanil tip	Ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, tikarsilin-klavulanik asit, seftriakson
	GSBL üreten	Karbapenemler

1.2.10.2 *E. coli* Enfeksiyonları

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *E. coli*, insanların ve sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal sistemlerinde en sık rastlanan ve en önemli patojenlerden biridir. Konak ile karşılıklı olarak yararlı bir ilişki içinde yaşar ve nadiren hastalığa neden olur. Bununla birlikte, geniş bir hastalık yelpazesinden sorumlu olduğu için, aynı zamanda en yaygın insan ve hayvan patojenlerinden biridir (Allocati ve ark., 2013).

Patojenik izolatlarda spesifik virülans faktörlerinin tanımlanmasından önce, *E. coli* temel olarak O (lipopolisakkarit, LPS) ve H (flagellar) antijenlerinin serolojik tanımlamasına dayanarak sınıflandırılmıştır. Barındırdığı virülans faktörü tipine dayanarak, *E. coli* izolatları patojenik tiplere sınıflandırılır (patotipler, aynı hastalığa neden olan aynı türden bir izolat grubu olarak tanımlanır). Enterik *E. coli* için en az yedi majör patotip tanımlanmıştır. Bunun yanında üç ekstraintestinal *E. coli* patotipi de tanımlanmıştır (ExPEC) (Tablo 2). Bağırsak patojenleri, fekal-oral yoldan kontamine yiyecek veya su alımıyla yayılırlar (Allocati ve ark., 2013).

Tablo 2. *Escherichia coli* patojenik tipleri (Allocati ve ark., 2013)

Patotip	Hastalıklar	Belirtiler	Virulans Faktörleri
Enterik <i>E. coli</i>			
EnteroPatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	Çocuklarda İshal	Sulu ishal ve kusma	Bfp, İntimin, LEE
EnteroHemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	Hemorajik kolit, HUS	Kanlı ishal	Shiga toksinler, İntimin, Bfp
EnteroToksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	Gezgin ishali	Sulu ishal ve kusma	İsiya dayanıklı ve kılıfsız toksinler, CFA'lar
EnteroAgregatif <i>E. coli</i> (EAEC)	Çocuklarda İshal	Mukus ve kusma ile ishal	AAF'ler, sitotoksinler
Diffüz Aderan <i>E. coli</i> (DAEC)	Çocuklarda akut diyare	Sulu ishal, tekrarlayan İYE	Daa, AIDA
Enteroİnvaziv <i>E. coli</i> (EIEC)	Şigelloz benzeri	Sulu ishal; dizanteri	Shiga toksini, hemolizin, Hücresel istila, İpa
Aderanİnvaziv <i>E. coli</i> (AIEC)	Crohn hastalığı ile ilişkili	Kalıcı bağırsak iltihabı	Tip 1 fimbria, Hücresel istila
Ekstraintestinal <i>E. coli</i> (ExPEC)			
ÜroPatojenik <i>E. coli</i> (UPEC)	Düşük İYE ve sistemik enfeksiyonlar	Sistit, piyelonefrit	Tip 1 ve P fimbria; AAF'ler, hemolizin
Yenidoğan Menenjit <i>E. coli</i> (NMEC)	Yenidoğan menenjit	Akut menenjit, sepsis	S fimbria; K1 kapsülü
Avian Patojenik <i>E. coli</i> (APEC)	Olası gıda kaynaklı hastalık kaynağı		Tip 1 ve P fimbria; K1 kapsülü

Bfp: Paket oluşturan pillus; LEE: Enterosit etkileme odağı; HUS: Hemolitik-üremik sendromu; CFA: kolonizasyon faktörü antijeni; AAF: Agregatif Yapışma Fimbriyası; Daa: yaygın adezyon; AIDA: yaygın yapışmaya karışan adezin; İpa: İstila plazmid antijeni.

1.2.10.3 Ülkemizde *E. coli*'de Antibiyotik Direnci

Ülkemizde hastane ya da toplum kökenli *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlendiği bazı çalışmalara ait veriler Tablo 3'te verildi. Çalışmalarda tespit edilen en yüksek antibiyotik direnç oranı baz alındığında ampisilin en yüksek direnç oranına sahip olduğu görülmektedir. Bunun yanında bu çalışmalarda *E. coli* izolatlarında trimetoprim-sulfametoksazol, amikasin ve sefalotine yüksek oranda direnç gözlenmiştir.

Tablo 3. *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri

İzolasyon tarihi	İzolasyon sayısı	Çalışmada tespit edilen en yüksek antibiyotik direnç oranı (%)	Kaynak
Mart 2009-Mart 2010	2459	82,5 ampisilin	(Duman ve ark., 2010)
Ocak 2008-Aralık 2008	191	63,9 ampisilin	(Gözüküçük ve ark., 2012)
2001 ve 2002	120	83,3 ampisilin	(Akçam ve ark., 2004)
Haziran 2008-Nisan 2009	255	34,9 trimetoprim-sulfametoksazol	(Sağlam ve ark., 2012)
Ocak 2000-Ocak 2004	457	66,4 ampisilin	(Kaya ve ark., 2006)
2003	217	94,9 amikasin	(Bozkurt ve ark., 2005)
Ocak 2000-Temmuz 2003	257	80 ampisilin ve sefalotin	(Gündüz ve Mumcuoğlu, 2004)
Eylül 2006-Ağustos 2007	167	71,3 ampisilin	(Salduz ve Yiğit, 2010)
Ekim 2011-Ağustos 2012	181	65,8 ampisilin	(Terek ve Başoğlu 2013)
Eylül 2001-Ocak 2003	151	77 ampisilin	(Şahin ve ark., 2004)
Ocak 2014-Aralık 2014	222	60,8 ampisilin	(Denk ve Tartar, 2015)
2004-2008	1641	80,8 ampisilin	(Ardıç ve Karakaş.,2012)
Ocak 2013-Aralık 2013	847	64 ampisilin	(Iraz ve ark., 2014)
Ocak 2008-Aralık 2014	8975	66,9 ampisilin	(Yılmaz ve ark., 2016)
Ocak 2006-Aralık 2006	385	76,1 ampisilin	(Temiz ve ark., 2008)

2 MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

Çalışmada agaroz (Sigma), gliserol (Sigma), etidyum bromür (EtBr) (Bio-Rad), dNTP (Fermentas), 100 bp DNA marker (Fermentas), Tris-Base (Merck), glasiyal asetik asit (Sigma), EDTA (Merck), 6X DNA yükleme boyası (Thermo Scientific), tripton (LABM), maya ekstraktı (Canda), NaCl (Sigma) kimyasalları kullanıldı. Ayrıca polimeraz zincir reaksiyonlarında Taq DNA polimeraz (New England, Biolabs) enzimi kullanıldı.

Çalışmada kullanılan Luria-Bertani (LB) Besiyeri hazırlanışı;

1000 ml için:

- 10 gr Tripton
- 5 gr Maya Ekstraktı
- 5 gr NaCl 1000 ml dH₂O çözülerek hazırlandı. 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

Çalışmada kullanılan 10X TAE tamponunun hazırlanışı;

1000 ml için:

- 342 gr Tris Base
- 57.1 ml Glasiyal asetik asit
- 37.2 gr EDTA 500 ml saf suda çözüldü. pH 8.5’e ayarlandıktan sonra son hacim dH₂O 1000 ml’ye tamamlandı.

Çalışmada kullanılan 1X TAE tamponu 10X TAE tamponunun 1/10 oranında dH₂O ile seyreltilmesiyle hazırlandı. Çalışmada kullanılan %1’lik agaroz jel, 0.5 gr agarozun üzerine 50 ml 1X TAE tamponu eklendikten sonra mikrodalgada kaynatılarak

hazırlandı Soğutulduktan sonra üzerine son konsantrasyon 0.5 ug/ml olacak şekilde EtBr eklendi.

2.2 Yöntem

2.2.1 *E. coli* İzolatlarının Temini ve Antibiyotik Duyarlılık Oranlarının Belirlenmesi

158 *E. coli* izolatı Eylül 2018-Ocak 2019 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nde tedavi gören hastalardan izole edilmiştir. İzolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için VITEK 2 (bioMer-ieux, Craponne, France) sistemi kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi için Eucast (Eucast Version 9.0) kullanılmıştır. İzolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkların belirlenmesi Trabzon Fatih Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

2.2.2 *E. coli* İzolatlarının Gliserol Stoklarının Yapılması ve Total DNA İzolasyonu

E. coli izolatlarından seçilen birer koloni 4 ml antibiyotik kullanılmadan hazırlanan Luria-Bertani (LB) besiyerine ekilerek gece boyu 37°C'de çalkalamalı inkübatörde üretildi. Bakteriyel süspansiyonların 800'er µl'si alınıp üzerine 200'er µl gliserol eklenerek %20'lik gliserol stoklar hazırlandı. Bakteriyel süspansiyonların 1000'er µl'si 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi, süpernatantlar döküldü. Pelletler, 1000'er µl distile suda çözülerek 10 dakika kaynatıldı. Daha sonra 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantın 500'er µl'si ependorflara aktarıldı. Polimeraz Zincir Reksiyonlarında (PZR) kalıp DNA olarak kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

2.2.3 *E. coli* İzolatlarında *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M9} Genlerinin PZR ile Taranması

E. coli izolatlarında *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M9} genlerinin varlığı PZR yöntemiyle araştırıldı. PZR'da kullanılan primerler, primerlerin oluşturacağı amplikonların büyüklükleri ve primerlerin erime noktası sıcaklıkları Tablo 4'de verildi.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan primerler

Primerler	5'-3'	Amplikon büyüklükleri	T _m °C	Kaynaklar
CTX-M1	F: GCGTGATACCACTTCACCTC R: TGAAGTAAGTGACCAGAATC	260	55	(Cicek ve ark., 2013)
CTX-M9	F: GTGACAAAGAGAGTGCAACGG R: ATGATTCTCGCCGCTGAAGCC	856	60	(Khan ve ark., 2019)
TEM	F: AGTATTCAACATTTYCGTGT R: TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	847	56	(Cicek ve ark., 2013)
SHV	F: ATGCGTTATATTCGCCTGTG R: TTAGCGTTGCCAGTGCTC	843	55	(Cicek ve ark., 2013)

2.2.3.1 *E. coli* İzolatlarında *bla*_{TEM} Geninin PZR ile Taranması

TEM-F ve TEM-R primerleri kullanılarak PZR reaksiyonu gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu 50 µL hacimde 1X Taq polimeraz tampon, 5 mM MgCl₂, 0,2 mM her bir dNTP, 300 ng her bir primer, 5 µL kalıp DNA ve 0,2 ünite Taq polimeraz kullanılarak hazırlandı. Tablo 5'te verilen termal döngü koşullarına göre PZR reaksiyonları gerçekleştirildi. PZR ürünü %1'lik agaroz jelde yürütüldü ve jel görüntüleme cihazı (Biorad Molecular Imager) ile sonuçlar görüntülendi (Cicek ve ark., 2013).

Tablo 5. *bla*_{TEM} geni için termal döngü koşulları

Ön denatürasyon	95°C'de 5 dakika	
Ayrılma	95°C'de 45 saniye	
Primer bağlanma	56°C'de 45 saniye	35 Döngü
Sentez	68°C'de 1 dakika	
Son sentez	68°C'de 10 dakika	

2.2.3.2 *E. coli* İzolatlarında *bla*_{SHV} Geninin PZR ile Taranması

SHV-F ve SHV-R primerleri kullanılarak PZR reaksiyonu gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu 50 µL hacimde 1X Taq polimeraz tampon, 5 mM MgCl₂, 0,2 mM her bir dNTP, 300 ng her bir primer, 5 µL kalıp DNA ve 0,2 ünite Taq polimeraz kullanılarak

hazırlandı. Tablo 6’da verilen termal döngü koşullarına göre PZR reaksiyonları gerçekleştirildi. PZR ürünü %1’lik agaroz jelde yürütüldü ve sonuçlar jel görüntüleme cihazı (Biorad Molecular Imager) ile görüntülendi (Cicek ve ark., 2013).

Tablo 6. *bla_{SHV}* geni için termal döngü koşulları

Ön denatürasyon	95°C’de 5 dakika	
Ayrılma	95°C’de 45 saniye	
Primer bağlanma	55°C’de 45 saniye	35 Döngü
Sentez	68°C’de 1 dakika	
Son sentez	68°C’de 10 dakika	

2.2.3.3 *E. coli* İzolatlarında *bla_{CTX-M1}* Geninin PZR ile Taranması

CTX-M1-F ve CTX-M1-R primerleri kullanılarak PZR reaksiyonlar gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu için 50 µL hacimde 1X Taq polimeraz tampon, 5 mM MgCl₂, 0,2 mM her bir dNTP, 300 ng her bir primer, kalıp DNA’dan 5 µL ve 0,2 ünite Taq polimeraz kullanılarak hazırlandı. Tablo 7’de verilen termal döngü koşullarına göre PZR reaksiyonları gerçekleştirildi. PZR ürünü %1’lik agaroz jelde yürütülerek elde edilen sonuçlar jel görüntüleme cihazı (Biorad Molecular Imager) ile görüntülendi (Cicek ve ark., 2013).

Tablo 7. *bla_{CTX-M1}* geni için termal döngü koşulları

Ön denatürasyon	95°C’de 2 dakika	
Ayrılma	95°C’de 1 dakika	
Primer bağlanma	55°C’de 1 dakika	30 Döngü
Sentez	68°C’de 1 dakika	
Son sentez	68°C’de 10 dakika	

2.2.3.4 *E. coli* İzolatlarında *bla_{CTX-M9}* Geninin PZR ile Taranması

CTX-M9-F ve CTX-M9-R primerleri kullanılarak PZR reaksiyonu gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu 50 µL hacimde 1X Taq polimeraz tampon, 5 mM MgCl₂, 0,2 mM her bir dNTP, 300 ng her bir primer, 5 µL kalıp DNA ve 0,2 ünite Taq polimeraz

kullanılarak hazırlandı. Tablo 8’de verilen termal döngü koşullarına göre PZR reaksiyonları gerçekleştirildi. %1’lik agaroz jelde yürütülerek elde edilen PZR ürünü sonuçları jel görüntüleme cihazı (Biorad Molecular Imager) ile görüntülendi (Khan ve ark., 2019).

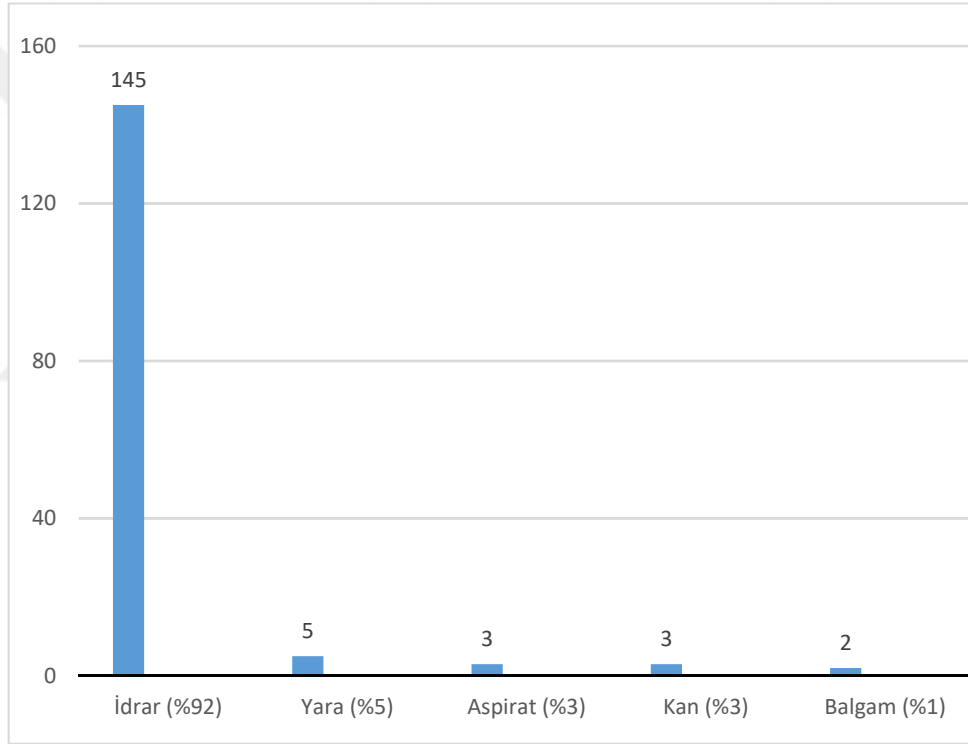
Tablo 8. *bla*_{CTX-M9} geni için termal döngü koşulları

Ön denatürasyon	95°C’de 2 dakika	
Ayrılma	95°C’de 1 dakika	
Primer bağlanma	60°C’de 1 dakika	30 Döngü
Sentez	68°C’de 1 dakika	
Son sentez	68°C’de 10 dakika	

3 BULGULAR

3.1 *E. coli* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Oranları

Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilen 158 *E. coli* izolatları hastalara ait idrar, yara, aspirat, kan ve balgam örneklerinden izole edilmiştir. İzolatların 145'i (%92) idrar, 5'i (%3) yara, 3'ü (%2) aspirat, 3'ü (%2) kan ve 2'si (%1) balgam örneklerinden izole edilmiştir (Şekil 18).



Şekil 18. Örneklerin oransal dağılımı

Antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde izolatların en yüksek direnç oranı %99,4 ile ampisilin için, en düşük direnç oranı ise %1,3 ile ertapenem için olduğu görüldü. *E. coli*'lerin %97,5'inin sefuroksim ve sefuroksim aksetil, %89,9'unun seftriaksona, %70,3'ünün siprofloksasine, %60,8'inin trimetoprim/sülfametaksazole, %30,4'ünün gentamisine ve %26,6'sının piperasilin/tazobaktama dirençli olduğu bulundu (Tablo 9).

Tablo 9. İzolatların antibiyotik duyarlılık profilleri

Antibiyotikler	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Ampisilin	157 (%99,4)	-	1 (%0,6)
Sefuroksim	154 (%97,5)	-	4 (%2,5)
Sefuroksim Aksetil	154 (%97,5)	-	4 (%2,5)
Seftriakson	142 (%89,9)	6 (%3,8)	10 (%6,3)
Siprofloksasin	111 (%70,3)	5 (%3,2)	42 (%26,6)
Trimetoprim /Sülfametaksazol	96 (%60,8)	-	62 (%39,2)
Gentamisin	48 (%30,4)	3 (%1,9)	107 (%67,7)
Piperasilin/Tazobaktam	42 (%26,6)	41 (%25,9)	75 (%47,5)
Ertapenem	2 (%1,3)	-	156 (%98,7)

İdrar örneklerinden izole edilen 145 *E. coli*'nin antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde izolatların %99,3'ünün ampisiline, %1,4'ünün ertapenme dirençli olduğu görüldü. *E. coli* izolatlarının diğer antibiyotiklere direnç oranları %97,2'si sefuroksim ve sefuroksim aksetile, %89'u seftriaksona, %72,4'ü siprofloksasine, %61,4'ü trimetoprim/sülfametaksazola, %31'i gentamisine ve %26,9 piperasilin/tazobaktama dirençli olarak bulundu (Tablo 10).

Tablo 10. İdrar örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.

Antibiyotikler	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Ampisilin	144 (%99,3)	-	1 (%0,7)
Sefuroksim	141 (%97,2)	-	4 (%2,8)
Sefuroksim Aksetil	141 (%97,2)	-	4 (%2,8)
Seftriakson	129 (%89)	6 (%4,1)	10 (%6,9)
Siprofloksasin	105 (%72,4)	4 (%2,8)	36 (%24,8)
Trimetoprim /Sülfametaksazol	89 (%61,4)	-	56 (%38,6)
Gentamisin	45 (%31)	1 (%0,7)	99 (%68,3)
Piperasilin/Tazobaktam	39 (%26,9)	39 (%26,9)	67 (%46,2)
Ertapenem	2 (%1,4)	-	143 (%98,6)

Yara örneklerinden izole edilen 5 *E. coli*'nin antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde izolatların tamamının ampisilin, sefuroksim, sefuroksim aksetil ve seftriaksona karşı dirençli oldukları, %80'inin trimetoprim/sülfametaksazola, %40'ının siprofloksasine ve %20'sinin gentamisine karşı dirençli olduğu, piperasilin/tazobaktam ile ertapeneme karşı ise dirençli izolat olmadığı görüldü (Tablo 11).

Tablo 11. Yara örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.

Antibiyotikler	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Ampisilin	5 (%100)	-	-
Sefuroksim	5 (%100)	-	-
Sefuroksim Aksetil	5 (%100)	-	-
Seftriakson	5 (%100)	-	-
Siprofloksasin	2 (%40)	-	3 (%60)
Trimetoprim /Sülfametaksazol	4 (%80)	-	1 (%20)
Gentamisin	1 (%20)	1 (%20)	3 (%60)
Piperasilin/Tazobaktam	-	2 (%40)	3 (%60)
Ertapenem	-	-	5 (%100)

Aspirat örneklerinden izole edilen 3 *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde izolatların tamamının ampisilin, sefuroksim, sefuroksim aksetil ve seftriaksona karşı dirençli olduğu, %66,7'sinin trimetoprim/sülfametaksazol, siprofloksasin ve piperasilin/tazobaktama karşı ve %33,3'ünün gentamisine karşı dirençli olduğu, ertapeneme karşı ise dirençli izolat olmadığı görüldü (Tablo 12).

Tablo 12. Aspirat örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.

Antibiyotikler	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Ampisilin	3 (%100)	-	-
Sefuroksim	3 (%100)	-	-
Sefuroksim Aksetil	3 (%100)	-	-

Tablo 12 (devam). Aspirat örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.

Antibiyotikler	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Seftriakson	3 (%100)	-	-
Siprofloksasin	2 (%66,7)	-	1 (%33,3)
Trimetoprim /Sülfametaksazol	2 (%66,7)	-	1 (%33,3)
Gentamisin	1 (%33,3)	-	2 (%66,7)
Piperasilin/Tazobaktam	2 (%66,7)	-	1 (%33,3)
Ertapenem	-	-	3 (%100)

Kan örneklerinden izole edilen 3 *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde izolatların tamamının ampisilin, sefuroksim, sefuroksim aksetil ve seftriaksona karşı dirençli olduğu, %66,7'sinin siprofloksasine karşı ve %33,3'ünün trimetoprim/sülfametaksazol, gentamisin ve piperasilin/tazobaktam karşı direnç olduğu, ertapeneme karşı ise dirençli izolat olmadığı görüldü (Tablo 13).

Tablo 13. Kan örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.

Antibiyotikler	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Ampisilin	3 (%100)	-	-
Sefuroksim	3 (%100)	-	-
Sefuroksim Aksetil	3 (%100)	-	-
Seftriakson	3 (%100)	-	-
Siprofloksasin	2 (%66,7)	1 (%33,3)	-
Trimetoprim /Sülfametaksazol	1 (%33,3)	-	2 (%66,7)
Gentamisin	1 (%33,3)	1 (%33,3)	1 (%33,3)
Piperasilin/Tazobaktam	1 (%33,3)	-	2 (%66,7)
Ertapenem	-	-	3 (%100)

Balgam örneklerinden izole edilen 2 *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde izolatların tamamının ampisilin, sefuroksim, sefuroksim aksetil ve seftriaksona karşı dirençli olduğu, siprofloksasin, trimetoprim/sülfametaksazol,

gentamisin, piperasilin/tazobaktam ve ertapeneme karşı ise tüm izolatların duyarlı olduğu görüldü (Tablo 14).

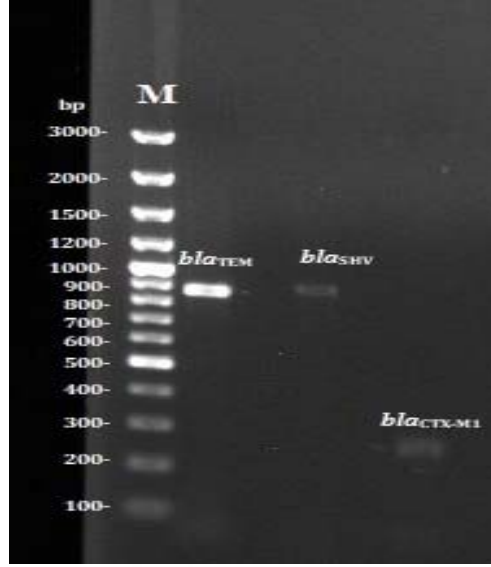
Tablo 14. Balgam örneklerinden izole edilen izolatlara ait örneklerin antibiyotik duyarlılık profilleri.

Antibiyotikler	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Ampisilin	2 (%100)	-	-
Sefuroksim	2 (%100)	-	-
Sefuroksim Aksetil	2 (%100)	-	-
Seftriakson	2 (%100)	-	-
Siprofloksasin	-	-	2 (%100)
Trimetoprim /Sülfametaksazol	-	-	2 (%100)
Gentamisin	-	-	2 (%100)
Piperasilin/Tazobaktam	-	-	2 (%100)
Ertapenem	-	-	2 (%100)

3.2 *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M9} Genlerinin PZR ile Taranması

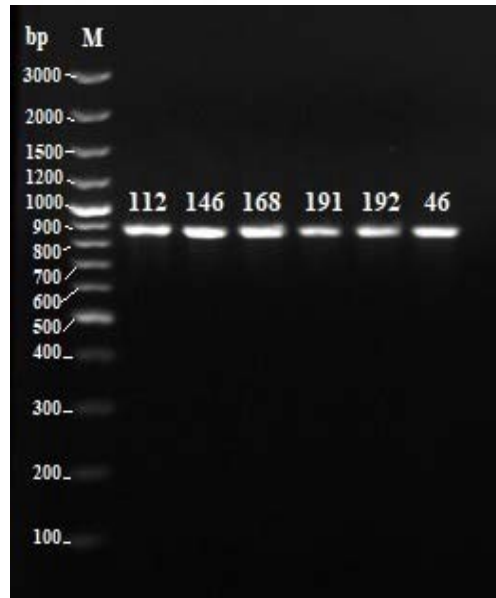
158 *E. coli* izolatında TEM, SHV, CTX-M1 ve CTX-M9 kodlayan genlerin varlığı PZR yöntemiyle araştırıldı. PZR sonuçlarına göre 158 örneğin 97'sinde (%61.4) *bla*_{CTX-M1}, 65'inde (%41.1) *bla*_{TEM}, 3'ünde (%1.9) *bla*_{SHV} ve 14'ünde (%8.9) *bla*_{CTX-M9} tespit edildi.

*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} pozitif örneklerden seçilerek yapılan agaroz jel elektroforezi sonuçlarının jel görüntüleme cihazı (Biorad Molecular Imager) ile elde edilen görüntüsü Şekil 19'daki gibidir.



Şekil 19. *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} pozitif örneklerin %1'lik agaroz jel görüntüsü. M: 100 bp Marker

*bla*_{CTX-M9} pozitif örnekler içerisinde seçilerek yapılan agaroz jel elektroforezi sonuçlarının jel görüntüleme cihazı (Biorad Molecular Imager) ile edilen görüntüsü Şekil 20'deki gibidir.



Şekil 20. *bla*_{CTX-M9} pozitif örneklerin %1'lik agaroz jel görüntüsü M: 100 bp Marker

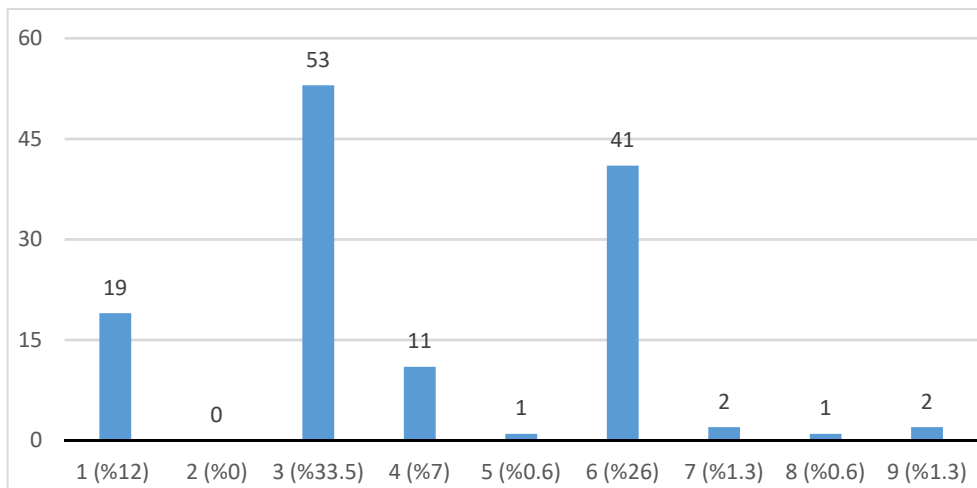
PZR sonuçlarının jel görüntüleme cihazı (Biorad Molecular Imager) ile elde edilen görüntülerine göre belirlenen *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M9} pozitif izolatlara

ait kodlar Tablo 15’te verildi.

Tablo 15. Pozitif izolatların kodları

β -Laktamazlar	Pozitif İzolat Kodları	Pozitif İzolat Sayısı
CTXM-1	1, 2, 7, 11, 13, 15, 17, 20, 29, 30, 32, 34, 35, 36, 37, 39, 41, 43, 44, 45, 47, 48, 53, 55, 56, 57, 62, 65, 67, 68, 69, 70, 74, 79, 80, 86, 87, 88, 90, 92, 93, 94, 95, 117, 118, 119, 121, 122, 124, 129, 130, 131, 132, 134, 136, 138, 139, 140, 145, 147, 149, 150, 156, 157, 162, 164, 169, 170, 171, 173, 177, 178, 179, 180, 185, 190, 197, 200, 203, 204, 205, 206, 208, 210, 211, 213, 216, 217, 220, 222, 225, 226, 227, 228, 232, 233, 234	97
CTXM-9	14, 46, 50, 60, 112, 146, 152, 168, 190, 191, 207, 209, 218, 228	14
TEM	1, 15, 19, 20, 30, 31, 34, 36, 40, 41, 44, 45, 47, 48, 53, 55, 56, 59, 61, 65, 67, 70, 74, 86, 87, 90, 91, 93, 94, 97, 119, 121, 122, 123, 124, 126, 132, 133, 134, 136, 138, 140, 148, 150, 151, 159, 161, 162, 167, 169, 171, 173, 174, 183, 186, 189, 197, 198, 203, 205, 207, 216, 218, 220, 234	65
SHV	36, 97, 140	3

Gen kombinasyonları ve gen kombinasyonlarının izolatlarda bulunma oranları (Şekil 21) incelendiğinde 53 izolatta CTX-M1, 19 izolatta TEM ve 11 izolatta da CTX-M9 un tek başlarına bulunduğu, SHV nin ise hiçbir izolatta tek başına bulunmadığı görüldü. 41 izolatta TEM+CTX-M1, 2 izolatta TEM+CTX-M9, 2 izolatta SHV+TEM+CTX-M1, 1 izolatta SHV+TEM ve 1 izolatta CTX-M1+CTX-M9 kombinasyonlarının olduğu görüldü.



Şekil 21. Gen kombinasyonları grafiği.

(1: TEM, 2: SHV, 3: CTX-M1, 4: CTX-M9, 5: SHV+TEM, 6: TEM+CTX-M1, 7: TEM+CTX-M9, 8: CTX-M1+CTX-M9, 9:SHV+TEM+CTX-M1)

4 TARTIŞMA

E. coli, mikrobiyolojide en çok çalışılan Gram negatif bakterilerden biridir. Bu tür insanlarda ve birçok hayvanda intestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir (Toval ve ark., 2014). Enterik *E. coli* için yedi intestinal temel patotip tanımlanırken, ekstraintestinal *E. coli* için üç tane patotip tanımlanmıştır. Ekstraintestinal *E. coli* patotiplerinden biri de üropatojenik *E. coli*'dir (UPEC) (Allocati ve ark., 2013).

UPEC, toplum kökenli idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) yaklaşık %90'ının ve nozokomiyal İYE'lerin %50'sine kadarının etkenidir. Kateterle ilişkili İYE'lerin, hastane enfeksiyonunun en yaygın nedenlerinden birini temsil ettiği ve tedavi maliyetlerinin Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık 400 milyon dolara kadar olduğu tahmin edilmektedir (Toval ve ark., 2014).

İYE insan nüfusunun büyük bir kısmını etkiler. Dünya çapında yaklaşık 150 milyon insan, yüksek sosyal maliyeti olan İYE'yi her yıl geçirmektedir. Kadınların %40'ının yaşamları boyunca en az bir İYE geçirdiği tahmin edilmektedir. İYE, idrarda belirli sayıda bakteri bulunduğunu ifade eder (genellikle $>10^5$ / ml) ve semptomatik İYE'ler, şiddet derecesine göre ürosepsis sendromu, piyelonefrit ve sistit olarak sınıflandırılır. Klinik olarak İYE sınıflaması, yapısal veya nörolojik idrar yolu anormalliklerinin varlığına bağlı olarak komplike olmayan veya komplike vakaları içerir. Antibiyotik tedavisinin etkinliği, İYE'den sorumlu üropatojenlerin antimikrobiyal direnç paternine ve identifikasyonuna bağlıdır. Bakteriyel karakterizasyon olmadan İYE'yi tedavi etmek için antibiyotik reçete uygulaması üropatojenler arasında artan direnç ve oral tedavilerin etkinliğinin azalmasına neden olmuştur. İYE'lerin klinik semptomları sayısız antibiyotik ile hafifletilmiş olmasına rağmen, UPEC'in kalıcılığı ve antibiyotiklere direnç ciddi bir problemdir. Avrupa Üroloji Birliği'nin 2015 kılavuz ilkelerine göre, tekrarlayan İYE'nin önlenmesi için öneriler ilk önce davranış değişikliklerine ve hemen ardından antibiyotiksiz önlemlere yöneliktir. Bu iki önerinin yeterince etkili olmaması durumunda antibiyotik profilaksisi göz önünde bulundurulmalıdır. Avrupa'da UPEC izolatlarında direnç, üçüncü kuşak

sefalosporinler için ortalama %11,8 ve florokinolonlar için %22,3'lük değerler göstermektedir. Diğer antibiyotikler arasında imipenem, tüm UPEC suşlarına (%100) karşı en etkili antibiyotik iken, imipenemi ertapenem (%99,98), amikasin (%99,94) ve nitrofurantoin (%99,91) takip eder. İmipenem gibi karbapenemler, genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) suşlarının tedavisi için en iyi seçeneği temsil eder. UPEC suşları ayrıca siprofloksasin, sefotaksim, piperasilin/tazobaktam, azitromisin, doksisiklin ve seftriaksona karşı duyarlıdır. Bununla birlikte, birçok UPEC izolatu, ampisilin, oral birinci kuşak sefalosporinler, TMP-sülfametoksazol, sefuroksim, kotrimoksazol, amoksisilin-klavulanat, nalidiksik asit, sefradin ve aminopenisilinlere karşı dirençlidir. Retrospektif bir analiz ampirik tedaviler için en çok kullanılan antibiyotik olarak siprofloksasini tanımlamıştır. Kolistin, finafloksasin ve sefiderokol (S-649266) gibi yeni antibiyotikler İYE tedavisinde yararlı olabilir (Terlizzi ve ark., 2017).

Çalışmamıza Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'den temin edilen 158 *E. coli* dahil edilmiştir. İzolatlar en fazla idrar olmak üzere, kan, yara, balgam ve aspirat orijinlidir. İdrar yolu enfeksiyonların etkeni olarak *E. coli* dünyada olduğu gibi Türkiye'de de yaygındır. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmaların sonuçları İYE'ye *E. coli*'nin %62,5-%80 oranlarında sebep olduğunu göstermiştir (Güzel ve Akdoğan, 2017).

Çalışmada idrar örneklerinden izole edilen 145 *E. coli*'nin %99,3'ünün ampisiline, %97,2'sinin sefuroksime, %97,2'sinin sefuroksim aksetile, %89'unun seftriaksona, %72,4'ünün siprofloksasine, %61,4'ünün trimetoprim/sülfametaksozole, %31'inin gentamisine, %26,9'unun piperasilin/tazobaktama ve %1,4'ünün ertapeneme dirençli olduğu belirlendi (Tablo 10). Üropatojenik *E. coli* için en etkili antibiyotikler arasında olan ertapeneme karşı direnç çalışmamızda idrar örneklerinde izole edilen 145 *E. coli*'nin 2'sinde tespit edildi. Türkiye'de bir hastanede 15.752 hastaya ait idrar örneğinden izole edilen GSBL üreten 297 *E. coli*'de ertapenem direnç oranı %0,7 olarak belirlenmiştir (Doğru ve ark., 2014). Bu sonuç çalışmamızda elde edilen %1,4'lük direnç oranı gibi düşük bir orandır. Yine Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada, GSBL pozitif 239 *E. coli*'de ertapenem direnç oranı %0,8 gibi düşük bir oranda gözlenmiştir (Kuzucu ve ark., 2011). 385 *E. coli* izolatının dahil edildiği başka bir çalışmada ise ertapenem direnç oranı %2,8 olarak belirlenmiştir (Hacıseyitoğlu ve ark., 2014). Bulgularımız ve literatüre göre *E. coli* izolatlarında ertapenem direnç

oranın düşük olduğu ve *E. coli* kaynaklı İYE'lerin tedavisinde ertapenemin etkili bir seçenek olmaya devam edebileceği söylenebilir. UPEC'in seftriaksona duyarlı ve trimetoprim/sülfametaksazole karşı genelde dirençli olduğu bilinmekte olup (Terlizzi ve ark., 2017) çalışmada idrar kültürü izolatlarının bu antibiyotiklere için direnç oranının yüksek olduğu (%89'u seftriaksona ve %61,4'ü trimetoprim/sülfametaksazole) gözlemlendi. UPEC'in seftriakson duyarlı olduğu literatür bilgisine karşın bu antibiyotiğe dirençli izolatların sayısının (129'u seftriaksona) yüksek olduğu belirlendi. İzolatların %72,4'ünün siprofloksasine dirençli olduğu tespit edildi. Siprofloksasinin ampirik tedavi için en çok kullanılan antibiyotik olduğu düşünüldüğünde (Terlizzi ve ark., 2017) bu antibiyotiğin yaygın kullanımı direncin artmasına neden olmuş olabilir ve siprofloksasin direnci çalışmanın yapıldığı bölgede ampirik tedavi güçlüklerine yol açabilir. Türkiye'de idrar yolu örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatları ile yapılan bazı çalışmalarda ampisiline direnç oranları %72, %84,8 ve %60,9'dur. (Kaçmaz ve ark., 2007; Duman ve ark., 2010; Denk ve Sağmak, 2015). Ampisiline direnç oranı (%99,3) bu çalışmalarda tespit edilen oranlardan yüksektir. Gentamisin direnç oranı (%31) bazı çalışmalarda tespit edilen direnç oranlarından (%16,7, %16, %26,7) yüksektir (Şahin ve ark., 2004; Duman ve ark., 2010; Denk ve Sağmak, 2015). Yapılan çalışmalarda piperasilin/tazobaktam %21,4, %4, %44,6 gibi direnç oranları tespit edilmiştir (Duman ve ark., 2010; Çıkman ve ark., 2014; Aydemir ve ark., 2019). Çalışmamızda da piperasilin-tazobaktam direnci %26,9 oranında belirlendi. UPEC izolatları genelde sefuroksime dirençli olduğu bilinmektedir, bulgularımıza göre 145 *E. coli* izolatının 141'i sefuroksime dirençlidir (%97,2).

Genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL'ler), genişlemiş spektrumlu sefalosporini hidrolize edebilen bazı bakteriler tarafından üretilen enzimler olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle seftazidim, seftriakson, sefotaksim ve oksiminomonobaktam gibi β -laktam antibiyotiklere karşı etkilidirler. Karbapenemler ve sefamisin, GSBL üreten suşlara karşı etkilidir. Genellikle, GSBL'ler klavulanik asit ve tazobaktam tarafından inhibe edilir. GSBL'ler Gram negatif bakterilerde, özellikle de *Enterobacteriaceae* familyasının üyelerinde ve *Pseudomonas aeruginosa*'da bulunmaktadır (Ghafourian ve ark., 2015).

TEM tipi GSBL, TEM-1 ve TEM-2'nin türevleridir. TEM-3 ilk olarak 1984 yılında Fransa'da *K. Pneumoniae*'de keşfedilmiştir. TEM-3, başlangıçta sefotaksime karşı etkinliği nedeniyle CTX-1 olarak biliniyordu. Şimdi, iki amino asit ile TEM-2'den farklı olan TEM-3 olarak adlandırılmaktadır. TEM tipi β -laktamların sayısı şu anda 100'ü geçmektedir. TEM-1 ve TEM-2 hariç hepsi GSBL'dir. *E. coli* ve *K. pneumoniae* 'de yaygın olarak bulunur. TEM tipi β -laktamazlarının aksine, daha az SHV tipi β -laktamaz SHV-1'den türetilir. SHV tipi GSBL'ler *Enterobacteriaceae* üyelerinde bulunur (Ghafourian ve ark., 2015).

CTX-M ilk olarak 2000 yılında Tzouvelekis tarafından tanımlanmıştır. CTX-M β -laktamaz terimi sefotaksim hidroliz yeteneğini ifade eder. CTX-M sefalotini benzilpenisilin'den ve sefotaksimi seftazidimden daha iyi hidrolize edebilmektedir. CTX-M, beş sınıfa ayrılır: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25. Bu enzimler, *Salmonella spp.* dahil olmak üzere farklı *Enterobacteriaceae* üyelerinde bulunurlar (Ghafourian ve ark., 2015).

Bu çalışmada farklı kültürlerden izole edilen *E. coli* izolatlarında *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M9} prevalansı araştırıldı. PZR sonuçlarına göre 158 örneğin 97'sinde (%61,4) *bla*_{CTX-M1}, 14'ünde (%8,9) *bla*_{CTX-M9}, 65'inde (%41,1) *bla*_{TEM} ve 3'ünde (%1,9) *bla*_{SHV} tespit edildi. İYE'den elde edilen *E. coli* izolatları arasındaki *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} ve *bla*_{SHV} genlerinin sıklığını bulmak için yapılan bir çalışmada, Hindistan orijinli 46 GSBL üreten *E. coli* izolatında *bla*_{TEM} %93,47, *bla*_{CTX-M} %82,6 ve *bla*_{SHV} %4,34 oranlarında belirlenmiştir (Jena ve ark., 2017). Başka bir çalışmada, Irak'taki hastanelerden izole edilen 55 üropatojenik *E. coli*'nin %87,2'sinde CTX-M, %54,5'inde TEM ve %21,8'inde SHV tipi GSBL tespit edilmiştir (Polse ve ark., 2016). Suudi Arabistan'da farklı klinik örneklerden izole edilen 70 *E. coli* izolatı ile yapılan bir çalışmada ise, %54,3 oranında *bla*_{TEM}, %7,1 oranında *bla*_{SHV}, %10 oranında *bla*_{CTX-M} tespit edilmiştir (AlBarraq ve ark., 2017). Türkiye'de 12 *E. coli* izolatı ile yapılan çalışmada ise *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} ve *bla*_{SHV} prevalansı sırasıyla %66,7, %83,3 ve %25 olarak bulunmuştur (Öksüz ve Gürler, 2009). Türkiye'deki 10 farklı hastaneden dört yüz kırk genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten *E. coli* izolatı ile yapılan çalışmada *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2} ve *bla*_{SHV} genlerinin sıklığı sırasıyla %44,09, %83,18, %31,81 ve %1,81'dir (Cicek ve ark., 2013). Başka bir çalışmada, Hindistan'da bir hastanede, idrar örneklerinden izole edilen *E. coli*'de %

28,57 CTX-M, %22,36 SHV ve %5,5 TEM tipi β -laktamaz tespit edilmiştir (Sujatha ve ark., 2017). Türkiye orijinli 100 *E. coli* izolatında *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} ve *bla*_{SHV} prevalansı sırasıyla %70, %92 ve %21 olarak bulunmuştur (Bektaş ve ark., 2018). Bir çalışmada, Türkiye’de iki hastaneden 61 *E. coli* izolatı temin edilmiş ve bu izolatların %92’sinde CTX-M, %39’unda TEM ve %5’inde SHV tespit edilmiştir (Nazik ve ark., 2011). Kuzey Lübnan’da toplam 73 klinik genişlemiş β -laktamaz üreten *E. coli* izolatı örneklenmiş ve izolatlarda %98,6 CTX-M, %21,9 TEM ve %4,1 SHV tipi β -laktamaz bulunmuştur (Sana ve ark., 2011). Dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında genellikle TEM, SHV ve CTX-M β -laktamazlar arasında en yaygın tipin CTX-M, en az görülen tipin ise SHV olduğu görülmektedir. Benzer şekilde bu tez çalışmasına dahil edilen izolatlarda CTX-M tipi β -laktamazların yaygın olduğu görüldü. CTX-M sefotaksimi seftazidimden daha iyi hidrolize edebilen bir enzimdir (Ghafourian ve ark., 2015). Bu çalışmada, izolatların sefotaksime direnç oranı değerlendirilmemiştir. Fakat PZR çalışmalarından elde edilen yüksek CTX-M prevalansı izolatların sefotaksime direnç oranının yüksek olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, gen kombinasyonlarına incelendiğinde 53 izolatta CTX-M1, 19 izolatta TEM ve 11 izolatta da CTX-M9’un tek başlarına bulunduğu, SHV nin ise hiçbir izolatta tek başına bulunmadığı tespit edildi. 41 izolatta TEM+CTX-M1, 2 izolatta TEM+CTX-M9, 2 izolatta SHV+TEM+CTX-M1, 1 izolatta SHV+TEM ve 1 izolatta CTX-M1+CTX-M9 kombinasyonlarının olduğu belirlendi. Yapılan bir çalışmada, 91 *E. coli* izolatında TEM/CTX-M1 %57,14, TEM/SHV/CTX-M1 %20,88, CTX-M %19,78, TEM %1,10 ve TEM/SHV %1,10 oranlarında bulunmuştur (Salah ve ark., 2016). Türkiye’de 440 *E. coli* izolatı ile yapılan çalışmada, sadece CTX-M1, CTX-M2, TEM-1b ve SHV-11’i barındıran suşların oranı sırasıyla %30,90, %3,63, %2,27 ve % 0,23 olduğu ve CTX-M1-CTX-M2, CTX-M1-CTX-M2-TEM-1b, CTX-M2-TEM-1b, CTX-M1-TEM-1b, CTX-M1-CTX-M2-TEM-1b-SHV-11, CTX-M1-TEM-1b-SHV-11, CTX-M1-SHV-11, CTX-M1-CTX-M2-SHV-11 kombinasyonlarının bulunma oranlarının ise sırasıyla %12,95, %11,59, %2,95, %26,13, %0,45, %0,68, %0,22, %0,22 olduğu tespit edilmiştir (Cicek ve ark., 2013). TEM ve CTX-M tipi β -laktamazlar izolatlarda yüksek oranlarda bulunduğundan, TEM/CTX-M gen kombinasyonunun da yüksek oranda bulunması şaşırtıcı değildir.

Günümüzde GSBL barındıran patojenler klinikte ciddi sorunlara yol açmaktadır. Özellikle CTX-M β -laktamazı üreten *E. coli*'nin, prevalansı tüm dünyada hızlı bir şekilde artmaktadır (Görgeç ve ark., 2015; Jena ve ark., 2017). Bu noktada, hastane ya da toplum kökenli *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi ve bu izolatlarda GSBL kodlayan genlerin moleküler yöntemlerle belirlenmesi önem arz etmektedir. Antibiyotik duyarlılık profilleri ve direnç gen paternleri daha etkili ve uygun antibiyotik tedavi programlarının oluşturulmasına katkı sağlayacaktır (Deveci ve ark., 2010).



5 SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu yüksek lisans tez çalışmasında şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nden 158 *E. coli* izolatu temin edilmiştir. Bu izolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi Trabzon Fatih Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

2. 158 *E. coli* izolatının 145'inin (%92) idrar, 5'inin (%3) yara, 3'ünün (%2) aspirat, 3'ünün (%2) kan ve 2'sinin (%1) balgam kültürlerinden izole edildiği belirlendi.

3. Bu izolatların %99,4'ünün ampisiline, %97,5'inin sefuroksime, %97,5'inin sefuroksim aksetile, %89,9'unun seftriaksona, %70,3'ünün siprofloksasine, %60,8'inin trimetoprim/sülfametaksazole, %30,4'ünün gentamisine, %26,6'sının piperasilin/tazobaktama ve %1,3'ünün ertapeneme dirençli olduğu tespit edildi. En yüksek direnç oranı ampisilin için gözlenirken en düşük direnç oranı ertapenem için gözlemlendi.

4. 158 izolatın 145'i idrar kültürlerinden izole edilmiştir. İdrar kültürlerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının %99,3'ünün ampisiline, %97,2'sinin sefuroksime, %97,2'sinin sefuroksim aksetile, %89'unun seftriaksona, %72,4'ünün siprofloksasine, %61,4'ünün trimetoprim/sülfametaksazole, %31'inin gentamisine, %26,9'unun piperasilin/tazobaktama ve %1,4'ünün ertapeneme dirençli olduğu tespit edildi.

5. PZR yöntemi ile 158 *E. coli* izolatında TEM, SHV, CTX-M1 ve CTX-M9 kodlayan genlerin varlığı araştırıldı. PZR sonuçlarına göre 97 izolatta *bla*_{CTX-M1}, 14 izolatta *bla*_{CTX-M9}, 65 izolatta *bla*_{TEM} ve 3 izolatta *bla*_{SHV} tespit edildi. İzolatlar arasında en yaygın genin CTX-M1'i kodlayan gen olduğu ve bu sonucun dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalarla benzerlik gösterdiği görüldü.

6. 53 izolatta yalnız CTX-M1, 19 izolatta yalnız TEM ve 11 izolatta da yalnız CTX-M9 bulunduğu, SHV nin ise hiçbir izolatta tek başına bulunmadığı belirlendi. 41

izolatta TEM+CTX-M1, 2 izolatta TEM+CTX-M9, 2 izolatta SHV+TEM+CTX-M1, 1 izolatta SHV+TEM ve 1 izolatta CTX-M1+CTX-M9 kombinasyonlarının olduğu görüldü. TEM+CTX-M1 (%26) kombinasyonun izolatlar arasında en yaygın kombinasyonun olduğu ve bunun CTX-M1 ve TEM kodlayan genlerinin sırasıyla %61,4 ve %41,1 oranlarında bulunması ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

5.2 Öneriler

Bu çalışmada farklı kültürlerden izole edilen 158 *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılık profilleri değerlendirildi ve bu izolatlarda *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M9}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} genlerinin prevalansı tespit edildi. CTX-M yaygın β -laktamaz tipi olarak belirlendi. CTX-M sefotaksim hidroliz ettiğinden, antibiyotik duyarlılık profilleri kapsamında bu antibiyotik değerlendirilmediğinden bu antibiyotik için antibiyogram yapılabilir. Ayrıca imipenem, seftazidim gibi diğer antibiyotikler için de antibiyogram yapılabilir.

Türkiye’de yapılan bir çalışmada fosfomisin GSBL üreten *E. coli* ilişkili idrar yolu enfeksiyonların tedavisinde ucuz ve etkili bir alternatif olacağı rapor edilmiştir (Pullukcu ve ark., 2007). 158 *E. coli* izolatı ile fosfomisin için antibiyogram yapılarak fosfomisin bölgedeki *E. coli* idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilirliği ile ilgili bilgi sağlanabilir.

Çalışmada tespit edilen *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M9}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} genleri pGEMT vektörüne klonlanıp dizin analizi yapılabilir. Dizin analizi sonuçları izolatların bu genlerin hangi alellerini taşıdığı hakkında bilgi verebilir. CTX-M2, CTX-M25 ve CTX-M8 tipi β -laktamazları kodlayan genler PZR yöntemiyle araştırılabilir. İzolatların klonal ilişkisi BOX, REP (Tekrarlı Gendışı Palindromik Eleman) PZR gibi yöntemler kullanılarak belirlenebilir.

KAYNAKLAR

- Akçam, F.Z., Kaya, O., Gönen, İ. ve Yaylı, G., 2004. İdrar örneklerinden izole edilen toplum ve hastane kaynaklı *Escherichia coli* suflarında antibiyotik direnci, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi*, 21(1): 23-27.
- AlBarraq, A.A., El-Badawy M.F., Al-Qarni, M.A., Al-Saedi, S.S., Al-Sufyani, W.M., Osaimi, F.E., Shohayeb, M.M., 2017. Prevalence of *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} and *bla*_{CTX-M} among β -lactamase producing *Escherichia coli* isolated from tertiary care hospitals in Taif, Saudi Arabia, *International Organization of Scientific Research Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 12: 11-16.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M.F. ve Ilio, C.D., 2013. *Escherichia coli* in Europe: an overview, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10: 6235-6254.
- Ardıç, N. ve Karakaş, A., 2012. Yatan hastalardan izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumu: beş yıllık veriler, *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*, 58: 189-93
- Asif, M., 2015. Study of antimicrobial quinolones and structure activity relationship of antitubercular compounds, *Research & Reviews: Journal of Chemistry*, 4: 28-70.
- Aydemir, Ö., Terzi, H.A., Şahin Özözen, E., Köroğlu, M. ve Altındış, M., 2019. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında piperasilin/tazobaktam invitro etkinliği, *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(2): 118-127.
- Bektaş, A., Güdücüoğlu, H., Gürsoy, N.C., Berktas, M., Gültepe, B.S., Parlak, M., Otlı, B. ve Mehmet Sait Tekerekoğlu, M.S., 2018. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının gsbl genlerinin araştırılması, *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 23(3): 116-123.
- Blair, J.M.A., Webber, M.A., Baylay A.J., Ogbolu, D.O. ve Piddock L.J.V., 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance, *Nature Reviews Microbiology*, 13: 42-51.
- Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Gülmez, S., Aygül, K., İzci, H. ve Berktas, M., 2005. Erişkin yaş grubu idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antimikrobiyallere duyarlılıkları, *Van Tıp Dergisi*, 12(4): 232-235.
- Bush, K., 2010. Bench-to-bedside review: the role of β -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections, *Bush Critical Care*, 14: 224

- Cicek, A.C., Saral, A., Duzgun, A.O., Yasar, E., Cizmeci, Z., Balci, P.O. Sari, F., Firat, M., AY ALTINTOP, Y., AK, S., Caliskan, A., Yildiz, N., Sancaktar, M., Budak, E.E., Erturk, A., Ozgumus, O.B., ve Sandalli, C., 2013. Nationwide study of *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey, *The Journal of Antibiotics*, 66: 647–650.
- Çıkman, A., Gündem, N.S., Gülhan, B., Aydın, M., Parlak, M. ve Bayram, Y., 2014. İdrar kültürlerinden soyutlanan *Enterobacteriaceae* türlerinin GSBL üretimi ile ertapenem ve diğer antibiyotiklere direncinin belirlenmesi, *Dicle Tıp Dergisi*, 41(3): 474-478.
- Denk, A. ve Sağmak Tartar, A., 2015. İdrar kültürlerinden izole edilen toplum kökenli *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 29(2): 51-55.
- Deveci, Ö., Yula, E. ve Tekin, A., 2010. İdrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik direnci, *Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi*, 1(3): 182-186.
- Doğru, A., Üçışık, A.C., Sargin, F., Aydın, Ö., Ergen, P. ve Tükenmez Tigen, E., 2014. İdrar örneklerinde üretilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları, *Göztepe Tıp Dergisi*, 29(4): 219-224.
- Duman, Y., Güçlüer, N., Serindağ, A. ve Tekerekoğlu, M.S., 2010. *Escherichia coli* suşlarında antimikrobiyal duyarlılık ve genişlemiş spektrumlu-beta laktamaz (GSBL) varlığı, *Fırat Tıp Dergisi*, 15(4): 197-200.
- Etebu, E. ve Arikekpar I., 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives, *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*, 4: 90-101.
- Eucast Version 9.0: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>
- Fair, R.J. ve Tor, Y., 2014. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century, *Perspectives in Medicinal Chemistry*, 6: 25-64.
- Fymat, A.L., 2017. Antibiotics and antibiotic resistance, *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 1: 65-80.
- Ghafourian, S., Sadeghifard, N., Soheili, S. ve Sekawi, Z., 2015. Extended spectrum beta-lactamases: definition, classification and epidemiology, *Current Issues in Molecular Biology*, 17: 11-22
- Görgeç, S., Kuzucu, Ç., Otlu, B., Yetkin, F. ve Ersoy, Y., 2015. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten nozokomiyal *Escherichia coli* izolatlarında beta-laktamaz gen oranları ve klonal ilişkinin araştırılması, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 49(1): 15-25.

- Gözüküçük, R., Çakıroğlu, B. ve Nas, Y., 2012. Toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonu etkeni olarak saptanan *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları, *Journal Of Academic Research In Medicine*, 2: 101-103.
- Gündüz, T. ve Mumcuoğlu, İ., 2004. İdrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Dergisi*, 34:157-161.
- Güzel, M. ve Akdoğan, D., 2017. İdrar Örneklerinde Saptanan *Escherichia Coli* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılığı, *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(1): 38-42.
- Hacıseyitoğlu, D., Çağ, Y., Başgönül, S. ve Özer, S., 2014. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının antibiyotiklere direnç durumu, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 44(3):101-106.
- Iraz, M., Gültepe, B., Ceylan, A. ve Doymaz, M.Z., 2014. idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşları'nın antibiyotik direnç paterni, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 16(1): 53-55.
- Jena, J., Sahoo, R.K., Debata, N.K. ve Subudhi, E., 2017. Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections in adults, *3 Biotech*, 7: 244.
- Kaçmaz, B., Aksoy, A. ve Sultan, N., 2007. İdrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* izolatlarında oral antibiyotiklere karşı direncin araştırılması, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 64(1): 11-15.
- Kapoor, G., Saigal, S. ve Elongavan, A., 2018. Action and resistance mechanisms of antibiotics: a guide for clinicians, *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 33: 300-305.
- Kaya, O., Akçam, F.Z., Uyar, C., Demir, C. ve Yaylı, G., 2006. 2000-2004 yılları arasında izole edilen üropatojen *Escherichia coli* suşlarında artan antibiyotik direnci, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13(4): 22-26.
- Khan, S., Campbell, M2., Alotaibi, K., Smani, D., Khan, A., Sung, K., Khan, S. ve Nawaz, M., 2019. Molecular typing of β -lactamase and tetracycline resistant *Escherichia coli* strains isolated from imported shrimp, *Journal of Bacteriology and Mycology*, 6(3): 1-6.
- Kuzucu, Ç., Yetkin, F., Görgeç, S. ve Yasemin Ersoy, Y., 2011. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarının ertapenem ve diğer karbapenemlere karşı duyarlılıklarının araştırılması, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 45(1): 28-35.
- Nazik, H., Bektöre, B., Öngen, B., İlktaç, M., Özyurt, M., Kuvat, N., Baylan, O., Keküllüoğlu, H., Haznedaroğlu, T. ve Keleşoğlu, F.M., 2011. Plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* urinary isolates from two teaching hospitals in Turkey: coexistence of TEM, SHV, CTX-M and

VEB-1 type β -lactamases, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10(3): 325-333.

- Öksüz, L. ve Gürler N., 2009. *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların tiplendirilmesi ve plazmid profil analizi, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 43: 183-194.
- Polse, R.F., Yousif, S.Y. ve Assafi, M.S., 2016. Prevalence and molecular characterization of extended spectrum betaLactamases-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated in Zakho, Iraq, *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 6(4): 163-167.
- Pullukcu, H., Tasbakan, M., Sipahi, O.R., Yamazhan, T., Aydemir, S. ve Ulusoy, S., 2007. Fosfomycin in the treatment of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*-related lower urinary tract infections, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29(1): 62-65.
- Saga, T. ve Yamaguchi, K., 2009. History of antimicrobial agents and resistant bacteria, *Research and Reviews*, 52: 103–108.
- Sağlam, H.S., Öğütlü, A., Demiray, V. ve Karabay, O., 2012. Üriner enfeksiyonlarda toplum kökenli *Escherichia coli*'nin yeri ve gelişen antibiyotik direnci, *Nobel Medicus*, 8(1): 67-71.
- Salah, F.D., Diagbouga, S., Dabire, A.M., Sadjı, A.Y., Nadembega, C., Moumouni, A., Soubeiga, S.T., Ouattara, A.K., Zohoncon, T., Kere, A.B., Karou, S. ve Simpoire J., 2016. First detection of resistance genes encoding extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* at lome, Togo, *Archives of Clinical Microbiology*, 7(6): 32.
- Salduz, Z.İ.Y. ve Yiğit, Ö., 2010. İdrar yolu enfeksiyonlu çocuklardan izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları, *Çocuk Enfeksiyon Dergisi*, 4: 138-142.
- Sana, T., Rami, K., Racha, B., Fouad, D., Marcel, A., Hassan, M., Sani, H. ve Monze, H., 2011. Detection of genes TEM, OXA, SHV and CTX-M in 73 clinical isolates of *Escherichia coli* producers of extended spectrum beta-lactamases and determination of their susceptibility to antibiotics, *The International Arabic Journal*, 1: 1:5.
- Saral, A., 2015. *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Taranması, blaGES-22 ve blaOXA-66 Varyantlarının Moleküler Karakterizasyonu, Doktora Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize.
- Silhavy, T.J., Kahne, D. ve Walker, S., 2010. The bacterial cell envelope, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2: 1-16.
- Sujatha, R., Kumar, A. ve Kumar, A., 2017. Molecular characterization of TEM, SHV and CTX-M extended spectrum beta lactamase among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in urinary isolates, *Journal of Dental and Medical Sciences*, 16(10): 76-81.

- Şahin, İ., Şencan, İ., Kaya, D., Gülcan, A. ve Öksüz, Ş., 2004. Hastane infeksiyonu etkeni üropatojen *Escherichia coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumu, *Ankem Dergisi*, 18(4):193-195.
- Temiz, H., Akkoç, H. ve Gül, K., 2008. Laboratuvarımızda idrar kültürlerinden izole edilen gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç, *Dicle Tıp Dergisi*, 35(4): 234-239
- Terek, E. ve Başoğlu, T., 2013. Bir üniversite hastanesine gönderilen idrar kültürlerinde üreyen izolatların dağılımı ve antimikrobiyal duyarlılık profilinin incelenmesi, *Ege Tıp Dergisi*, 52(3): 136-140.
- Terlizzi, M.E., Gribaudo, G., ve Maffei, M.E., 2017. UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies, *Of The Journal Frontiers in Microbiology*, 8:1-23.
- Toval, F., Köhler, C-D., Vogel, U., Wagenlehner, F., Mellmann, A., Fruth, A., Schmidt, M.A., Karch, H., Bielaszewska, M. ve Dobrindta, U., 2014. Characterization of *Escherichia coli* isolates from hospital inpatients or outpatients with urinary tract infection, *Journal of Clinical Microbiology*, 52(2): 407-418.
- URL-1. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/56928060#section=Structures> (18 Mayıs 2019, 09:20).
- URL-2. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Linezolid#section=2D-Structure> (17 Mayıs 2019, 15:00).
- Wright, G.D., 2005. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57: 1451-1470
- Yılmaz, N., Ağuş, N., Bayram, A., Şamlioğlu, P., Şirin, M.C., Derici, Y.K. ve Hancı, S.Y., 2016. Antimicrobial susceptibilities of *Escherichia coli* isolates as agents of community-acquired urinary tract infection (2008-2014), *Turkish Journal of Urology*, 42(1): 32-36.
- Zaman, S.B., Hussain, M.A., Nye, R., Mehta, V., Mamun, K.T. ve Hossain, N., 2017. A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing, *Cureus*, 6: 1403
- Zeng, X. ve Lin, J., 2013., Beta-lactamase induction and cell wall metabolism in Gram-negative bacteria, *Frontiers in Microbiology*, 4: 1-9.

ÖZGEÇMİŞ

Fotoğraf

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Ersin KAYA
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 1979 – Hopa / Artvin
Medeni hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : +90 466 312 70 62
Faks : +90 466 312 40 62
e-posta : ersink08@hotmail.com

Eğitim

Derece

Eğitim Birimi

Mezuniyet Tarihi

Lisans

Gazi Üniversitesi
Gazi Eğitim Fakültesi
Biyoloji Öğretmenliği

24/08/2001