

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇOCUK İDRAR ÖRNEKLERİNDEN *ESCHERICHIA COLI* İZOLASYONU;
GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ POZİTİF
İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI, DİRENÇ İLE
VİRÜLENS GENLERİNİN ANALİZİ VE FİLOGENETİK GRUPLARININ
BELİRLENMESİ**

(DOKTORA TEZİ)

Hicran ALKAN

Danışman

Prof. Dr. Mitat ŞAHİN

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARS-2021

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇOCUK İDRAR ÖRNEKLERİNDEN *ESCHERICHIA COLI* İZOLASYONU;
GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ POZİTİF
İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI, DİRENÇ İLE
VİRÜLENS GENLERİNİN ANALİZİ VE FİLOGENETİK GRUPLARININ
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Hicran ALKAN

Danışman

Prof. Dr. Mitat ŞAHİN

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARS-2021

TC
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Hicran ALKAN tarafından hazırlanmış olan “Çocuk İdrar Örneklerinden *Escherichia coli* İzolasyonu; Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Pozitif İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları, Direnç ile Virülens Genlerinin Analizi ve Filogenetik Gruplarının Belirlenmesi” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmenliği uyarınca değerlendirilerek oy ile edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 15/02/2021

Adı Soyadı:

İmza:

Başkan:

.....

Üye:

.....

Üye:

.....

Üye:

.....

Üye:

.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../ .../... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında doktora tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmada “Çocuk İdrar Örneklerinden *Escherichia coli* İzolasyonu; Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Pozitif İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları, Direnç ile Virülens Genlerinin Analizi ve Filogenetik Gruplarının Belirlenmesi” gerçekleştirilmiştir. İki farklı araştırma laboratuvarında gerçekleştirilen bu çalışmanın ilk aşaması Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda gerçekleştirilirken, ikinci aşaması ise Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasının planlanması, yürütülmesi ve raporlandırılması aşamasında desteklerini esirgemeyen danışman hocam Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Mitat ŞAHİN’e şükranlarımı sunarım. Ayrıca, aynı anabilim dalında ders aldığım ve her zaman samimi desteklerini gördüğüm Prof. Dr. Salih OTLU, Doç. Dr. Fatih BÜYÜK, Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ, Doç. Dr. Aliye Gülmez SAĞLAM, Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇELİK, Arş. Gör. Mustafa Reha COŞKUN, Arş. Gör. Eray BÜYÜK ve doktora öğrencisi Seda DURHAN’a teşekkürü bir borç bilirim.

Diğer yandan Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının değerli akademik kadrosundan sayın, Dr. Öğr. Üyesi Murat KARAMEŞE’ye, Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem Eda Balkan BOZLAK’a, Dr. Öğr. Üyesi Didem ÖZGÜR’e ve Uzman Abdullah GÜMÜŞ’e ve laborant Çağla ÇAKAS’a, bu süreçte beni bıkmadan usanmadan dinleyen kıymetli mesai arkadaşlarıma minnetlerimi ifade ederim.

Eğitim hayatım boyunca bana her türlü desteği verip bugünlere getiren ve varlıklarıyla gurur duyduğum sevgili aileme, değerli eşime ve onu bu süreçte ihmal etmek zorunda kaldığım canım oğluma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

ÖNSÖZ	
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	I
ŞEKİL LİSTESİ	II
TABLO LİSTESİ	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç ve Kapsam	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İdrar Yolu Enfeksiyonları	4
2.1.1. Epidemiyoloji	5
2.1.2. Etiyoloji	5
2.1.3. Patogenez	6
2.1.4. İYE Gelişimini Etkileyen Faktörler	7
2.2. Escherichia coli	9
2.2.1. Genel Özellikleri	10
2.2.2. Escherichia coli Patotiplendirmesi	14
2.2.2.1. UPEC Virülens Faktörleri	17
2.2.3. E. coli'nin Filogenetik Gruplandırması	18
2.3. Tanı	20
2.3.1. E. coli Tanılama Yöntemleri	21
2.4. E. coli' nin Direnç Özellikleri	23
2.4.1. Antibiyotik Direnci	23
2.4.2. GSBL Tanılama Yöntemleri	26
2.5. Tedavi	30
2.6. Korunma	31
3. MATERYAL ve METOT	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Çalışma İzinleri	33

3.1.2.	Etken İzolasyonu ve İdentifikasyonu İçin Gerekli Materyal	33
3.1.2.1.	Etken İzolasyonu İçin Kullanılan Besiyeri	33
3.1.2.2.	Etken İdentifikasyonu İçin Kullanılan Materyal ve Besiyerleri ...	34
3.1.3.	Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri İçin Gerekli Materyaller	37
3.1.4.	Moleküler Analizlerde Kullanılan Materyaller	39
3.1.5.	İzolatların Saklanması İçin Gerekli Materyaller	40
3.2.	Metot	40
3.2.1.	Örnekleme Yöntemi ve İdrar Örneklerinin Alınması	40
3.2.2.	Etken İzolasyon Yöntemi	40
3.2.3.	Etken İdentifikasyon Yöntemi	41
3.2.4.	Antibiyotik Duyarlılık Testi	42
3.2.5.	<i>E. coli</i> İzolatlarıyla Gerçekleştirilen Moleküler Analizler	43
3.2.5.1.	DNA (Nükleik Asit) Ekstraksiyonu	43
3.2.5.2.	GSBL Direnç Genlerinin Analizleri	43
3.2.5.3.	UPEC Virülens Genlerinin Belirlenmesi Multipleks PCR Yöntemi	47
3.2.5.4.	Filogenetik Gruplandırma Multipleks PCR Yöntemi	48
3.2.5.5.	Elektroforez Yöntemi	49
3.2.5.6.	Veri Analiz Yöntemi	50
4.	BULGULAR	51
4. 1.	Araştırmanın Genel ve Demografik Verilerine İlişkin Bulgular	51
4. 2.	Araştırmanın Antibiyotik Duyarlılıkları ve Direnç Genlerinin Varlığına İlişkin Bulgular	55
4. 3.	Araştırmanın Virülens Genlerinin Varlığına İlişkin Bulgular..	61
4. 4.	Araştırmanın Filogenetik Tiplendirme Çalışmalarına İlişkin Bulgular	63
4. 5.	Araştırmanın İstatistiksel Çalışmalarına İlişkin Bulgular	65
5.	TARTIŞMA VE SONUÇLAR	75
5. 1.	Araştırmanın Genel ve Demografik Bulgularından Elde Edilen Sonuçlar	75
5. 2.	Araştırmanın Antibiyogram Testi ve Direnç Genlerinin Varlığına İlişkin Sonuçlar	80

5. 3.	Araştırmanın Virülens Genlerinin Varlığına İlişkin Sonuçlar...	91
5. 4.	Araştırmanın Filogenetik Tiplendirme Çalışmalarına İlişkin Sonuçlar	93
5. 5.	Araştırmanın İstatistiksel Çalışmalarına İlişkin Sonuçlar	95
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	97
7.	KAYNAKLAR	99



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Kısaltma	Açıklama
APEC	Avian Patojenik <i>Escherichia coli</i>
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CFU	Colony Forming Unit
CLED	Cistein Laktoz Elektrolit Deficient
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
ÇDST	Çift Disk Sinerji Testi
DAEC	Diffuz Agregatif <i>Escherichia coli</i>
EAEC	Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EHEC	Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvazif <i>Escherichia coli</i>
EMB	Eozin Metilen Mavisı
EPEC	Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ESBL	Extended Spectrum Beta Lactamase
ETEC	Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
ExPEC	Ekstraintestinal Patojenik <i>Escherichia coli</i>
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
HÜS	Hemolitik Üremik Sendrom
IMViC	İndol, Metil Red, Voges Proskauer, Citrate
İYE	İdrar Yolu Enfeksiyonu
MIK	Minimum İnhibitör İonsantrasyonu
MIO	Motility, Indole, Ornithine
MLEE	Multilocus Enzyme Electrophoresis
MLST	Multilocus Sequence Typing
MRKNS	Metisiline Dirençli Koagülaz Negatif Stafilokoklar
NCCLS	National Committee For Clinical Laboratory Standards
NMEC	Yenidoğan Menenjit <i>Escherichia coli</i>
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis
RAPD	Random Amplifiye Polimorfik
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorohisim
STEC	Shiga Toksin
TBE	Tris-Borate-EDTA
TSI	Triple Sugar Iron
UPEC	Üropatojenik <i>Escherichia coli</i>
VTEC	Verositotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
VUR	Vezikoüretal Reflü
XLD	Xylose Lysine Deoxicholate

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1.	β -Laktamazların sınıflandırılması	24
Şekil 2.	Dikotomöz karar ağacı	49
Şekil 3.	Yapılan çift disk sinerji testi ve antibiyogram duyarlılık testi örnek görüntüleri	56
Şekil 4.	Direnç genlerinden TEM'e ait PCR örnek görüntüleri	59
Şekil 5.	Direnç genlerinden CTX'e ait PCR örnek görüntüleri	60
Şekil 6.	Direnç genlerinden SHV'ye ait PCR örnek görüntüleri	60
Şekil 7.	Direnç genlerinden OXA-2'ye ait PCR örnek görüntüleri	61
Şekil 8.	Virülens genlerin multipleks PCR görüntülerine ilişkin örnek resim	63
Şekil 9.	Filogenetik tiplendirmeye ilişkin örnek multipleks PCR görüntüleri	64

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1.	<i>Escherichi coli</i> 'nin biyokimyasal özellikleri	12
Tablo 2.	GSBL'ler için yapılan tarama testinde değerlendirmede karşılaştırılacak inhibisyon zon çapları ve MIK değerleri	27
Tablo 3.	Çalışmada izole edilen bakteri türlerine ilişkin veriler	52
Tablo 4.	İdrar örneklerinde GSBL pozitif <i>E. coli</i> rastlanan kız/erkek çocuklarına ait istatistiksel veriler	53
Tablo 5.	İdrar örneklerinden izole edilen GSBL pozitif <i>E. coli</i> sayısının yaş aralığına göre dağılımı	53
Tablo 6.	İdrar örneklerinden GSBL pozitif <i>E. coli</i> izolasyonlarının aylara göre dağılımı	54
Tablo 7.	İdrar örneklerinin alındığı kliniklere göre GSBL pozitif <i>E. coli</i> izolasyon oranları	55
Tablo 8.	İdrar örneklerinden izole edilen GSBL pozitif <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik direnç ve duyarlılık değerleri	56
Tablo 9.	GSBL pozitif <i>E. coli</i> izolatlarında bulunan direnç genlerinin bulunma sıklığına ilişkin istatistiksel veriler	58
Tablo 10.	GSBL pozitif <i>E. coli</i> izolatlarının virülens genlerini bulundurma sıklığına ilişkin istatistiksel veriler	61
Tablo 11.	Filogenetik gruplandırma tablosu	63
Tablo 12.	GSBL pozitif <i>E. coli</i> izolatlarının filogenetik tiplendirmelerinin sıklığına ilişkin istatistiksel veriler	64
Tablo 13.	Çocukların cinsiyeti ile PCR yöntemiyle belirlenen direnç genlerini bulundurma sıklığı arasındaki istatistiksel veriler	65
Tablo 14.	Çocukların yaş aralıkları ile PCR ile belirlenen direnç genlerini bulundurma sıklığı arasındaki istatistiksel veriler	67
Tablo 15.	Çocukların cinsiyeti ile multipleks PCR yöntemiyle belirlenen virülens genlerini bulundurma sıklığı arasındaki istatistiksel veriler	68

Tablo 16.	Çocukların yaş aralıkları ile multipleks PCR yöntemiyle belirlenen virülens genlerini bulundurma sıklığı arasındaki istatistiksel veriler	70
Tablo 17.	Çocukların cinsiyeti ile <i>E. coli</i> izolatlarının multipleks PCR yöntemiyle belirlenen filogenetik tiplendirmelerinin sıklığı arasındaki istatistiksel veriler	72
Tablo 18.	Çocukların yaş aralıkları ile <i>E. coli</i> İzolatlarının multipleks PCR yöntemiyle belirlenen filogenetik tiplendirmelerinin sıklığı arasındaki istatistiksel veriler	72
Tablo 19.	GSBL pozitif idrar izolatlarından antibiyotiklere karşı dirençli olanların direnç geni bulundurma, filogenetik grubu ve virülens geni bulundurmalarına ait veriler	74
Tablo 20.	Antibiyotik direnç durumlarının literatürle karşılaştırılması	81
Tablo 21.	Direnç genlerine ilişkin bulguların literatürdeki benzer çalışmalar ile karşılaştırılması	89
Tablo 22.	Virülens genlerine ilişkin bulguların bazı bilimsel çalışmalarla karşılaştırılması	92
Tablo 23.	Filogenetik tiplendirme sonuçlarına ilişkin bulguların benzer bilimsel çalışmalar ile karşılaştırılması	94

ÖZET

Çocuk İdrar Örneklerinden *Escherichia coli* İzolasyonu; Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Pozitif İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları, Direnç ile Virülens Genlerinin Analizi ve Filogenetik Gruplarının Belirlenmesi

Yakın zamanlardaki akademik çalışmalar incelendiğinde, enfeksiyon türleri arasında üriner sistem enfeksiyonlarının yaygın olduğu görülmektedir. Özellikle çocuklarda sıklık bakımından ikinci sırada yer alan üriner sistem enfeksiyonlarının en önemli etkeni ise *E. coli* olarak açıklanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Kafkas Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinin çeşitli polikliniklerine idrar yolu enfeksiyonu şikayetiyle başvuran çocuklardan alınan idrar örneklerinin farklı özelliklerinin incelenmesidir. Çalışmada, 1077 idrar örneği incelenmiş ve bunların 350 tanesinde, bakteri üremesi tespit edilmiştir. Bu izolatlardan 237 tanesi *E. coli* olarak tanımlanmıştır. Çift Disk Sinerji Testi ile 80 adet *E. coli* izolatında GSBL varlığı saptanmıştır. Elde edilen GSBL pozitif izolatların antibiyogram duyarlılık incelemelerinde, 16 farklı antibiyotik diski kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu izolatlar içerisinde direnç genlerinin varlığı PCR yöntemleri ile incelenmiş ve bu amaçla TEM, SHV, CTX-M ve OXA-2 direnç genleri araştırılmıştır. Araştırmada ayrıca, GSBL pozitif *E. coli* izolatlarında *pap*, *sfa*, *cnf*, *aer* ve *hly* virülens genlerinin varlığı, multipleks PCR yöntemiyle incelenmiştir. Son aşamada ise, kullanılan *E. coli* izolatlarının hangi filogenetik grupta olduğunu belirlemek için multipleks PCR yöntemi ile yapılmıştır. GSBL pozitif izolatların antibiyogram testinde Ampisilin, 63 (%78,8) direnç oranı ile en fazla dirençle karşılaşan antibiyotik olmuştur. Bunu, 49 izolat (%61,3) ile Sefazolin, Sefiksim, Seftazidim, Sefuroksim aksetil takip etmiştir. 48 izolatta (%60) Seftriakson direnci ile karşılaşırken, Sefepim için bu değer 46 izolat (%57,5) olmuştur. Amoksisilin-klavulanik asite karşı belirlenen direnç miktarı 30 (%37,5) olarak belirlenmiştir. Buna yakın bir değer ise, 28 izolat ile (%35) Trimetoprim-sulfametoksazole karşı elde edilmiştir. Siprofloksasin 10 (%12,5), Levofloxacin 9 (%11,3), Gentamisin 7 (%8,8), Tazobaktam piperasillin 3 (%3,8), Amikasin ve Nitrofurantoine 2 (%2,5) oranında direnç gösteren *E. coli* izolatı belirlenmiştir. Fosfomisine dirençli izolat belirlenmemiştir. GSBL pozitif 80 *E. coli* izolatının 79 tanesinde PCR yöntemi ile direnç geni varlığı belirlenmiştir. En fazla rastlanan direnç geni 69 izolat (%86,3) ile TEM olurken, 39 izolat (%48,8) ile SHV ikinci sırada yer almıştır. CTX-M direnç genini bulunduran *E. coli* izolatlarının sayısı ise 20 (%25) olarak bulunmuştur. En düşük direncin ise 8 izolat (%10) ile OXA-2 direnç genine olduğu belirlenmiştir. Virülens genlerini belirlemek için yapılan PCR incelemelerinde, sırasıyla *aer* 41 (%51,2), *pap* 35 (%43,8), *cnf* 15 (%18,8), *sfa* ve *hly* 9 (%11,3) oranında tespit edilen virülens genler olmuştur. *E. coli* izolatlarının filogenetik gruplandırmasında ise en fazla B2 filogenetik grubuna ait izolat belirlenmiştir 51 (%63,7). İkinci sırada ise B1 filogenetik grubuna ait *E. coli* izolatları yer almıştır 15 (%18,8). A ve D filogenetik grubuna ait *E. coli* izolatlarının sayısı ise 7 (%8,8) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, idrar yolu enfeksiyonuna sebep olan GSBL pozitif *E. coli* izolatların direnç ve virülens genleri ile filogenetik grup bakımından farklılıkların olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Çocuk, İdrar yolu enfeksiyonları, *E. coli*, Antibiyotik duyarlılığı, Virülens geni, Filogenetik sınıflandırma

SUMMARY

***Escherichia coli* Isolation from Child Urine Samples; Antibiotic Sensitivity of Expanded Spectrum Beta-Lactamase Positive Isolates, Analysis of Resistance and Virulence Genes and Determination of Phylogenetic Groups**

When recent academic studies are examined, it is seen that urinary tract infections are common among types of infections. *E. coli* is the most important cause of urinary tract infections, which ranks second in frequency, especially in children. The aim of this study is to examine the different characteristics of urine samples taken from children who applied to various polyclinics of Kafkas University Research and Application Hospital with the complaint of urinary tract infection. In the study, 1077 urine samples were examined and bacterial growth was detected in 350 of them. 237 of these isolates were identified as *E. coli*. ESBL was detected in 80 *E. coli* isolates with the Double Disk Synergy Test. Antibiogram susceptibility studies of ESBL positive isolates were performed using 16 different antibiotic discs. Then, the presence of resistance genes in these isolates was investigated by PCR methods and for this purpose, TEM, SHV, CTX-M and OXA-2 resistance genes were investigated. In addition, the presence of *pap*, *sfa*, *cnf*, *aer* and *hly* virulence genes in ESBL positive *E. coli* isolates was investigated by multiplex PCR method. In the last stage, the phylogenetic group of *E. coli* isolates used was determined by multiplex PCR method. In the antibiogram test of ESBL positive isolates, Ampicillin was the antibiotic that encountered the most resistance with a resistance rate of 63 (%78,8). This was followed by Cefazolin, Cefixime, Ceftazidime, Cefuroxime axetil with 49 isolates (%61,3). While 48 isolates (%60) encountered Ceftriaxone resistance, this value was 46 isolates (%57,5) for Cefepime. The amount of resistance against Amoxicillin-clavulanic acid was determined as 30 (%37,5). A value close to this was obtained with 28 isolates (%35) against Trimethoprim-sulfamethoxazole. Ciprofloxacin 10 (%12,5), Levofloxacin 9 (%11,3), Gentamicin 7 (%8,8), Tazobactam piperacillin 3 (%3,8), *E. coli* isolates were determined to be resistant to Amikacin and Nitrofurantoin at a rate of 2 (%2,5). Fosfomycin resistant isolate has not been identified. Resistance gene presence was determined by PCR method in 79 of 80 ESBL positive *E. coli* isolates. While TEM was the most common resistance gene with 69 isolates (%86,3), SHV ranked second with 39 isolates (%48,8). The number of *E. coli* isolates containing the CTX-M resistance gene was found to be 20 (%25). The lowest resistance was determined to be OXA-2 resistance gene with 8 isolates (%10). In PCR examinations performed to determine virulence genes, *aer* 41 (%51,2), respectively; *pap* 35 (%43,8), *cnf* 15 (%18,8), *sfa* and *hly* were virulent genes detected in 9 (%11,3). In the phylogenetic grouping of *E. coli* isolates, the highest number of isolates belonging to the B2 phylogenetic group was determined 51 (%63,7). *E. coli* isolates belonging to the B1 phylogenetic group took the second place 15 (%18,8). The number of *E. coli* isolates belonging to the A and D phylogenetic group was determined as 7 (%8,8). The results obtained showed that there may be differences between resistance and virulence genes and phylogenetic groups of ESBL positive *E. coli* isolates that cause urinary tract infection.

Key Words: Child, Urinary tract infections, *E. coli*, Antibiotic susceptibility, Virulence gene, Phylogenetic classification

1. GİRİŞ

1.1. Amaç ve Kapsam

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE), günümüzde sıklıkla rastlanan bakteri kaynaklı enfeksiyonlar arasındaki yerini muhafaza etmektedir. Bu enfeksiyon tedavi ve hastanede yatma süresini bağlı olarak, önemli bir ekonomik yükü de beraberinde getirmektedir (McGowan, 2001; Ejrnaes, 2011). Yapılan çalışmalarda dünyada her yıl 150 milyon insanın İYE'den dolayı yüksek maliyetler ödediği bildirilmektedir (Flores-Mireles ve ark., 2015; Terlizzi, Gribaudo ve Maffei, 2017).

İdrar yolu enfeksiyonlarının özellikle çocuklarda yaygın olarak ortaya çıktığı, yaşa bağlı olarak ortaya çıkma sıklıklarının değiştiği ve özellikle kız çocuklarında bu oranın yüksek seyrettiği bilinmektedir (Ginsburg ve McCracken, 1982; Kandur ve Küpeli, 2003; Mahony ve ark., 2020).

Enfeksiyonun hangi bakteri/bakterilerle yaygın hale geldiği incelendiğinde en önemli etkenin Gram negatif bir bakteri olan *Escherichia coli* (*E. coli*) olduğu belirtilmektedir (Ginsburg ve McCracken, 1982; Ögedey, 2011).

İdrar yolu enfeksiyonlarında *E. coli* yaygın enfeksiyon etkeni olmasının yanı sıra antibiyotik direnci geliştirmesi açısından da önemli bir bakteri konumundadır. Direnç durumu, antibiyotiğin bakteriye etki etmemesinden kaynaklanabileceği gibi, önceden antibiyotiğe karşı duyarlı bir bakterinin zaman içinde çeşitli mekanizmalar nedeni ile aynı antibiyotiğe karşı direnç geliştirmesi şeklinde de olabilir.

Gram negatif bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi sağlık açısından bir dezavantaj ve toplumun sağlığını tehdit eden bir unsur olarak görülmektedir. Farklı yollarla direnç mekanizmaları geliştiren Gram negatif bakterilerde çoklu ilaç direnci sağlık alanındaki endişelerin artmasına neden olmaktadır. Zira bakteriler tarafından direnç geliştirilen antibiyotik sayısı hızla artarken yeni antibiyotik gelişiminin aynı hıza sahip olmadığı görülmektedir (Talbot ve ark., 2006).

Bakteriler tarafından direnç geliştirilen antibiyotik sayısının her geçen gün artması ve yeni üretilen antibiyotiklerin bunu karşılamakta yetersiz olması hastane ve sosyal yaşam alanlarında enfeksiyon kontrolü sorunlarına sebep olmaktadır. Özellikler toplum kökenli enfeksiyonlara bakıldığında, geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL)

üreten *E. coli* gibi bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlara rastlama sıklığı artış göstermektedir (Woodford ve ark., 2004). Mpelle ve ark. (2019) yapmış oldukları çalışmada 89 *E. coli* izolatu ile çalışmışlardır. Bu izolatların antibiyotik direnç özellikleri ve GSBL varlığı PCR yöntemi ile incelenmiş ve izolatların 43 adetinde GSBL pozitifliği saptanmıştır.

E. coli tarafından üretilen GSBL, farklı mekanizmalarla antibiyotiklere karşı direnç geliştirmektedir. Özellikle; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler gibi antibiyotiklerin etkinliği GSBL enzimleri tarafından engellenmektedir. Bu nedenle *E. coli* enfeksiyonlarında gelişigüzel tedavi önermek, GSBL direnci ile karşılaşma sıklığını da artıran bir uygulama olacaktır (Hoşoğlu ve ark., 2007; Çoban ve ark., 2014; Ateş, 2019).

İdrar yolu enfeksiyonlarına ilişkin Türkiye’de 2019 yılında 783 ve 2020 yılında 417 çalışma yapılmıştır. Yurt dışı kaynaklı makale sayısı ise 2019 yılı için 54900 ve 2020 yılı için 29600 olarak belirlenmiştir. Yine çocuklarda üriner sistem enfeksiyonları konulu Türkiye’de yapılan makale sayısına bakıldığında 2019 yılında 283 ve 2020 yılında ise 166 makaleye rastlanmıştır. Yurt dışı kaynaklı olarak 2019 yılında çocuklara yönelik idrar yolu enfeksiyonu çalışması 22100 olurken, 2020 yılında bu sayı 14200 olarak elde edilmiştir (<https://scholar.google.com>).

Hem çok yaygın bir çalışma alanı olması hem de toplumu tehdit eden bir yanının olması araştırma konusunun “çocuklarda idrar yolu enfeksiyonları” ile ilgili olmasında en önemli etkidir. Yapılan literatür incelemeleri sonucunda Kars evreninde bu konu ile ilgili sistematik bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, Kars İli Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezinin farklı polikliniklerine idrar yolu enfeksiyonu şikâyeti ile gelen, 0-18 yaş aralığındaki çocuklardan alınan idrar numunelerinin farklı özelliklerinin incelenmesidir. Bu amaçla çalışma farklı kategorilere ayrılmış ve çalışmada amaca ulaşabilmek için alt amaçlar şu şekilde belirlenmiştir:

1- Toplanan idrar numunelerinin içerisinden klasik yöntemlerle *E. coli* izolatlarının belirlenmesi,

2- İzole edilen *E. coli* ’lerin elde edildiği çocuklara ait demografik özelliklerin istatistiksel olarak irdelenmesi.

3- Elde edilen *E. coli* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının Disk Difüzyon Yöntemiyle ve GSBL enzim aktivitelerinin varlığının Çift Disk Sinerji Testi ile tespit edilmesi,

4- Elde edilen *E. coli* izolatlarında TEM, CTX-M, SHV, OXA-2 tipi GSBL enzimlerini kodlayan antibiyotik direncinde rol oynayan bazı genlerin moleküler yöntemler ile araştırılması,

5- Elde edilen *E. coli* izolatlarının UPEC (Uropatojenik *Escherichia coli*) *pap*, *cnf*, *sfa*, *aer* ve *hly* virülens genlerinin tespit edilmesi,

6- *E. coli* izolatlarının moleküler yöntemler ile *chuA*, *yjaA* ve *TspE4C2* priimerleri kullanılarak filogenetik gruplandırmasının yapılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. İdrar Yolu Enfeksiyonları

İdrar Yolu Enfeksiyonu (İYE), çeşitli mikroorganizmaları bulaşması sonucu, normal şartlarda steril olan idrarın ve idrar yollarının enfekte olmasıdır. Çocukluk döneminde solunum sistemi enfeksiyonlarından sonra en sık karşılaşılan enfeksiyon kaynaklı hastalıktır. Enfeksiyonun yeri ve etkeninin bilinmesi tedavi ve prognozu etkilemektedir (Hansson ve Jodal, 2004; Türkiye Milli Pediatri Derneği Çocuk Nefroloji Derneği Ortak Kılavuzu, 2014).

Klinik olarak lokasyonuna göre; sistit, piyelonefrit ve asemptomatik bakteriüri olmak üzere üç temel tanım vardır (Elder, 2016).

1. Sistit: Sık ve ağrılı idrar yapma gibi bulgularla birlikte genellikle ateşin eşlik etmediği mesane mukozasının enfeksiyonudur. Enfeksiyon, üretra ve mesane gibi alt idrar yollarına yerleşmiştir. Genel semptomları sıkışma, sık idrara çıkma, dizüri, suprapubik ağrı şeklindedir (Hansson ve Jodal, 2004; Jantusch ve Kher, 2007).

2. Piyelonefrit: Halsizlik, ateş ve titreme gibi bulguların yanı sıra sırt ve yan ağrısının da eşlik ettiği böbrek parankim dokusu ile toplayıcı sistemin enfeksiyonlarıdır (Rubin ve Tolhoff-Rubin, 1996; Hansson ve Jodal, 2004). Bazen tek semptom ateş olabilir (Elder, 2016).

3. Asemptomatik bakteriüri: Tüm yaş grubu çocuklarda sıklıkla görülen İYE'dir (Edelmann ve ark., 1973). Görülme sıklığı yaşa bağlı olarak değişmekte olup, okul öncesi dönem kız çocuklarında daha sık görülmektedir. Bu oran erkek çocuklarında %0,04-0,5 ve kız çocuklarında ise %0,8-1,8 olarak bildirilmektedir. Asemptomatik bakteriürilerin tedavilerine yönelik yapılan çalışmalarda uzun dönemli izlenimlerinde tedavi almayan ve tedavi alanlar arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı ve enfeksiyonun tekrarlanmasının devam ettiği ifade edilmiştir (Wettergren, Jodal ve Jonasson, 1985; Wettergren ve ark., 1990). Bu sebepte ötürü asemptomatik bakteriüri hastalara herhangi bir tedavi önerilmemektedir (Hanson ve ark., 1981; Hansson ve ark., 1989).

2.1.1. Epidemiyoloji

Çocukluk döneminde İYE'nin görülme sıklığı, enfeksiyonun semptom gösterip göstermemesine, yaş durumuna, cinsiyete, tanı yöntemlerine ve toplumun kültürel yapısına göre değişiklik göstermektedir. Ateş bulgusu olup 2 yaşa kadar olan çocuklarda görülme sıklığı %3-5'dir. İYE, 1yaşından küçük kız çocuklarında %7 oranında görülürken, 1 yaşından büyüklerde bu oran %8'e yükselmektedir. 1 yaşından küçük erkek çocuklarında %3 oranında görülürken, 1 yaşından büyük olanlarda bu oran %2'ye düşmektedir. Sünnet olmamış çocuklarda görülme sıklığı 10 kat daha fazladır (Bensman, Dunve ve Ulinski, 2009; Türkiye Milli Pediatri Derneği Çocuk Nefroloji Derneği Ortak Kılavuzu 2014). Yenidoğan dönemi dışında bütün yaşlarda görülme sıklığı kızlarda erkekler oranla daha yüksektir. Bunun sebebi kızların anatomik yapısından kaynaklı olarak üretranın daha kısa oluşu ve bunun fekal yoldan assendan bulaşmayı kolaylaştırmasıdır. Yeni doğan dönemde ise üriner sisteme ait doğumsal anomalilerin görülme sıklığı erkek çocuklarda daha yüksek olduğu için, İYE prevalansı kızlara göre daha yüksek seyretmektedir (Bratslavsky ve ark., 2004). İYE kız çocuklarında tekrarlanma riski %40 iken, erkek çocuklarında bu oran %32'dir. İki sene içinde tekrarlama görülmeyen vakalarda bu oran %27'ye, üç sene de görülmeyenlerde %18'e ve dört sene sonunda %5'e kadar düşmektedir (Stull ve Lipuma, 1991). Bunların dışında işeme bozuklukları, mesane kapasitesi, konstipasyon, çeşitli anatomik bozukluklar ve üriner tıkanıklıklar gibi nedenler İYE için risk oluşturmaktadır (Bratslavsky ve ark., 2004; Bensman ve ark., 2009).

2.1.2. Etiyoloji

Tüm yaş gruplarında İYE'nin gelişmesinde sıklıkla karşılaşılan etkenlerin başında Gram negatif enterik bakteriler gelmektedir. Bu bakterilerin büyük bir kısmı bağırsak florasına ait bakterilerdir. Enfeksiyonların %80-90'ından Enterobacteriaceae familyasından *Escherichia coli* (*E. coli*) sorumludur (Zorc, Kiddoo ve Shaw, 2005; Edlin ve ark., 2013). Diğer sık görülen etkenler *Klebsiella* spp, *Proteus* spp, *Staphylococcus saprophyticus* ve *Enterobacter* spp'dir (Lin ve ark., 2000; Sastre ve ark., 2007). İYE'de nadir rastlanan etkenler ise *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp, *Staphylococcus* spp ve *Grup B streptokoklar* olarak belirtilmiştir (Abrahamsson ve ark., 1993).

İYE'den hastanede tedavi gören hastalarda en sık rastlanan etken %50'lik oran ile yine *Escherichia coli* iken diğer etkenlerin *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia*, *Enterococcus* ve *Staphylococcus epidermidis* olduğu bildirilmiştir (Cattell, 1998). İYE etkenlerinin görülme sıklığı ile ilgili ülkemizdeki yapılan bir çalışmada ilk sırada *Escherichia coli* (%54), sonrasında onu *Klebsiella* (%17,2) ve *Proteus spp* (%12,1)'in takip ettiği bildirilmiştir (Gökçe ve Bıyıklı, 2006). Bakteriyel etkenler dışında nadir görülmekle birlikte, virüslerden adenovirus, enterovirus, coxsackievirus, echovirus, mantarlardan ise candida türleri de İYE'ye neden olabilirler (Stamm, 2001; Wald, 2014).

2.1.3. Patogenez

Normal şartlarda üretranın distal uç kısmı hariç üriner sistem sterildir. Periüretal alanda bulunan bakteriler farklı yollardan enfeksiyon oluştururlar (Wippermann ve ark., 1991; Fernandes ve Duarte, 2002).

1- Assendan yol: İdrar yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %90'nının ortaya çıktığı sistemdir. Yaşamın ilk üç ayından sonra enfeksiyon sıklıkla bu yolu takip eder. Üretranın etrafında patojen mikroorganizmaların birikimi normal olarak enfeksiyon ortamını sağlamaktadır. Bu mikroorganizmalar üretranın giriş kısmından mesaneye yayılım gösterirler. Burada hastalık oluşturabilecek bakteri sayısına ulaştıklarında üreterden renal pelvise ve bu yolu takip ederek parankime doğru ilerleme gösterirler. Bu durum vezikoüretal reflü (idrarın böbreklere ve üreterlere doğru geri akması) varlığında daha belirgin hale gelir (Öksüz, 2009). Bu durum kız çocuklarında daha hızlı seyreder. Bunun sebebi kız çocuklarında üretranın kısa, düz anatomiye sahip olmasıdır. Tali bir etken ise kızlarda üretranın rektuma mesafesinin yakın olmasıdır (Arman, 2008). Erkek çocukları sünnet olmadığında sünnet derisi altına kolonize olan mikroorganizmalar enfeksiyon etkeni olabilmektedir (Hansson ve ark., 1998).

2- Hematojen yol: Yenidoğan çocuklarda mikroorganizmalar üriner sisteme kan yolu ile ulaşabilmektedir. Çok sık rastlanmayan bir enfeksiyon türü olmasına rağmen sepsis sırasında üriner sistemin enfekte olması sonucu gelişir. Yenidoğan haricindeki çocuklarda ise *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus* ve bazı *Serratia* türleri kan yolu ile idrar yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Hansson ve ark., 1998; Arman, 2008; Öksüz, 2009).

3- Lenfatik yol: İdrar yollarına lenf yoluyla yayılma rektum, kolon ve uterus civarındaki lenf bezlerinden olur. Bu enfeksiyonların primer sebepleri karın ve pelvis bölgesindeki enfeksiyonlar olduğu düşünülmektedir (Arman, 2008).

4- Doğrudan yayılım: Fistül (Cilt ve bağırsak arasında normalde olmaması gereken bir çıkıntının oluşması) zaman zaman vajina veya bağırsaklardan idrar yoluna doğru girişim yapar. Fistülün taşıdığı mikroorganizmalar ile böbreği enfekte etmesi sonucu oluşan enfeksiyonlardır (Hansson ve ark., 1998; Taşkesen ve Bayazıt, 2009).

2.1.4. İYE Gelişimini Etkileyen Faktörler

Enfeksiyonun gelişiminde etkili olan faktörler konağa ait olanlar ve mikroorganizmaya ait olanlar olmak üzere iki şekilde irdelenmektedir (Jack, 2000; Emre, 2002).

Konağa Ait Faktörler: İYE gelişimde etkili olan faktörlerden olan konağa ait faktörler konağın doğal savunma mekanizmaları ve konağa ait predispozan faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Konağın doğal savunma mekanizmaları irdelendiğinde; üriner sisteme ulaşan mikroorganizmaların enfeksiyona sebep olması için mikroorganizmanın sahip olduğu virülens faktörler ve konağın savunma mekanizmasında var olan defektler oldukça önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Tekrar eden İYE mikroorganizmaya ait olan nedenlerden çok, konakçının savunma sistemlerindeki yetersizlik nedeniyle meydana gelmektedir (Akkurt, 2018).

İdrarın sahip olduğu antibakteriyel koruma mekanizmaları hem in vitro hem de in vivo ortamlarda etkili olmaktadır. İdrarın osmolaritesinin yüksek oluşu, organik asitin yoğunluğu, içeriğindeki üre konsantrasyonunun yüksekliği ve pH'ının düşük olması idrarın sahip olduğu en önemli koruyucu faktörlerdir (Rubin ve Tolckoff-Rubin, 1996; Cattell, 1998). İdrarda glikoz ve serbest demirin olmayışı bakteriyel çoğalmaya karşı bir diğer koruyucu özelliğidir (Wippermann ve ark., 1991; Rubin ve Tolckoff-Rubin, 1996).

Böbreğin korteks bölgesi medullar bölgesine göre enfeksiyonlara karşı daha fazla dirençlidir. Medullar bölgenin enfeksiyona daha yatkın olmasının nedenleri, kan akımının düşük oluşu, yüksek düzeydeki amonyum konsantrasyonu, yüksek osmolarite ve pH'ın düşük olmasıdır. Medullar bölgenin sahip olduğu bu özellikler

hücrel ve humoral yanıt olumsuz etkileyerek enfeksiyonun gelişmesine neden olmaktadır (Rubin ve Tolhoff-Rubin,1996; Cattell, 1998).

Konağın böbreklerinde ve üriner sisteminde mikroorganizmaya karşı oluşturulan immün yanıt İYE'nin şiddetini ve enfeksiyonun seyrini belirleyecektir. Bu yanıt mikroorganizmanın enfeksiyon oluşturmaya engel olmak için önemlidir. Fakat verilen yanıtın fazla olması böbreklerin hasarına yol açabilir. Üropatojen özellikteki bakteriler üriner sistemdeki epitelyum hücrelere tutunarak inflamatuvar yanıtın başlamasını uyarır. Bu şekilde stokin ile kemokin salınması başlar (Jantausch, O'Donnell ve Wiedermann, 2000; Svanborg ve ark., 2001).

Konağa ait predispozan faktörlere bakıldığında ise üriner anatomisinin önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Kızlarda üretranın erkeklere oranla daha kısa olması asendan yoldan bakterilerin yayılmasını daha kolay kılmaktadır. Yetersiz hijyen, yanlış yapılan perine bakımı, paraziter hastalıklar sonucu oluşan lokal iltihaplanma gibi nedenler enfeksiyon oluşumunu artıran sebeplerdir (Jack, 2000; Emre, 2002; Shaikh ve ark., 2008).

Bir diğer enfeksiyona zemin hazırlayıcı faktör ise prepisyum ve sünnet durumudur. Yapılan çalışmalarda sünnetin İYE riskinde azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Wiswell ve Roscelli, 1986). Ateşli İYE geçiren 2 aylık erkek bebeklerin %75'nin sünnet olmadığı ifade edilmiştir (Ginsburg ve McCracken, 1982). Sünnet olmayan çocuklarda İYE sıklığının sünnet olan çocuklara oranla 3-7 kat fazla olduğu belirtilmiştir (To ve ark., 1998; Newman ve ark., 2002). Prepisyumun mukozasının tutunma yeteneğinden ötürü patojen mikroorganizmalar için iyi bir doku olabileceğinden ötürü sünnetin İYE sıklığını azaltacağı ileri sürülmektedir (Wiswell ve ark., 1988; Fussell ve ark., 1988).

İşeme disfonksiyonun konağa ait diğer bir predispozan faktör olduğu bilinmektedir. Anatomik ve nörojenik olarak normal olan çocukların anormal işeme paternine işeme disfonksiyonu denilmektedir. Bu durum İYE açısından bir risk faktörüdür. Mesanenin tam boşalmaması nedeniyle üropatojen bakteriler burada enfeksiyona zemin hazırlarlar (Loening-Baucke, 1997; Hellerstein ve Linebarger, 2003).

İdrar akımının engellenmesi sonucu ortaya çıkan fonksiyonel ve yapısal değişikliklere üriner obstrüksiyon denilmektedir. Bu durum İYE'ye zemin hazırlayan

önemli faktörlerden biridir. Bu hastalarda düşük virülensa sahip olan etkenler bile İYE'ye sebep olabilir (Hoberman ve Wald, 1997). Üriner obstrüksiyon sahip çocuklarda İYE görülme oranı %10 olarak bildirilmiştir (Winberg ve ark., 1974).

Böbrek taşları hem tıkanıklık hem de üriner sistemdeki epitelyum dokularda meydana getireceği irritasyondan ötürü mikroorganizmaların tutunup üremesine olanak sağlayarak enfeksiyon riski oluşturduğu bilinmektedir. Mikroorganizmanın taşın içinde bulunması tedaviyi de etkisiz kılacağı ve enfeksiyonun tekrarlanmasına zemin hazırlayacağı ifade edilmektedir (Alon, 2007).

İdrarın mesaneden renal pelvise ve üreterlere geri kaçıışı durumuna Veziköüreteral reflü (VUR) denilmektedir. Predispozan faktör olarak VUR'un önemli bir potansiyeli olduğu belirtilmektedir. Normalde bu geri kaçışa engel olan fizyolojik mekanizmalar bulunmaktadır. Mesane kaslarının işlevinin iyi olması, üreter çapının uygun olması anatomik olarak kasların uzunluğunun yeterli olması üretral peristaltizminin ve fleksibilitesinin normal olması gibi özellikler bu mekanizmalardan bazılarıdır. Bu mekanizmaların birinde oluşabilecek bozukluk VUR'a neden olabileceği bildirilmiştir (Behrman-Kliegman ve Jenson, 2000).

Mikroorganizmaya Ait Faktörler: Bir mikroorganizmanın üriner sistemde enfeksiyon oluşturup oluşturmaması, o mikroorganizmanın sahip olduğu virülens özellikleri ve konağın sahip olduğu savunma mekanizmalarıyla ilişkilidir. Konaktaki savunma mekanizmalarının iyi çalışmaması düşük virülensa sahip olsa bile mikroorganizmanın enfeksiyon oluşturmamasına neden olabilir. Konağın ait mekanizmaların sorunsuz olması durumunda ise etkenin miktarı ve virülens özellikleri enfeksiyonun seyrini belirleyen önemli faktörler olmaktadır. İYE'de sıklıkla izole edilen etken %80-90 oranında *Escherichia coli*'dir (Zorc ve ark., 2005; Chang ve Shortliffe, 2006; Edlin ve ark., 2013).

2.2. *Escherichia coli* (*E. coli*)

Escherichia coli (*E. coli*) oldukça eski bir tarihçeye sahiptir. Pediyatrist ve bakteriyolog olan Theodor Escherich, 1885 yılında neonatal ve infantların fekal florası üzerine yaptığı çalışmalarda, 19 bakteri türünü tanımlamak amacıyla Gram boyama ve fermantasyon reaksiyonları tekniklerini kullanarak saf kültürden bakteri izolasyonu gerçekleştirmiştir (Blount, 2015). İzole ettiği organizmaya *Bacterium coli commune*

adını vermiştir (Shulman, Friedmann ve Sims, 2007). Coli, "kalın bağırsaktan" demektir. 1919'da Castellani ve Chalmer bu bakteriye *Escherichia* cins ismini önermişler ve günümüzde *Escherichia coli* olarak adlandırılmasına öncü olmuşlardır (Unat, 1986). *Escherichia coli*'nin, yeni doğanlarda doğumdan sonraki saatler içinde sindirim sistemine kolonize olmaktadır. İlk suşların genellikle annede bulunanlarla serolojik olarak aynı olması bu durumun muhtemelen doğum sırasında meydana gelen bir olay sonucu olduğu belirtilmiştir. Aslında *E. coli* insanların bağırsak yolundaki en yaygın fakültatif anaerob tür olduğu ifade edilmiştir (Bettelheim ve ark., 1974). Sonrasında bağırsak dışında da enfeksiyon oluşturabilmektedir (Unat, 1986). *E. coli* birçok özelliğinden ötürü en fazla çalışılan mikroorganizma olduğu bilinmektedir (Blount, 2015). 20. Yüzyılın ilk çeyreğinde *E. coli* ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. *E. coli* bilimsel çalışmalarda kolay izole edilmesi, tanımlanması, hızlı üremesi gibi nedenlerden dolayı en sık kullanılan bakteridir. Uzmanlık alanlarının virüsler, bakteri fizyolojisi ve genetiği olan Bordet ve Ciuca (1921), Wollman (1925), Bronfenbrenner ve Korb (1925), Werkman (1927), Bronfenbrenner (1932)'ın *E. coli* üzerine çeşitli çalışmalar yaptığı bildirilmiştir (Daegelen ve ark., 2009). Bu çalışmalara 1940-1950 yılları arasında da devam edilmiş olup, moleküler biyoloji alanında *E. coli* öne çıkan bir mikroorganizma olmuştur. Tüm bu çalışmalar neticesinde önemli bir model organizma olarak kullanılmaktadır.

1940'larda, birçok temel çalışmalar, 1950'lerde ise moleküler biyoloji devriminin başlangıcında yapılan çalışmalar *E. coli*'yi ön plana çıkaran bir organizma haline getirmiştir. Sonuç olarak, *E. coli* genetik kod, transkripsiyon ve replikasyon da dahil olmak üzere yaşamın en temel yönlerinin ilk kez çalışıldığı organizma olmuştur. *E. coli* mikroorganizmaların biyolojisini, çeşitli metabolik özelliklerini, virulans faktörlerini, enzim ve metabolitlerini araştırmak için kullanılan konvansiyonel ve moleküler yöntemlerde model bakteri olarak kullanılmıştır (Zimmer, 2008).

2.2.1.Genel Özellikleri

Boyutlarına bakıldığında *E. coli* 2-4 µm uzunluğunda ve 1-1,5 µm enindedir. Şekil olarak uçları yuvarlak ve düz yapılıdır. Bu yapı standart nitelikte olmayıp bazen daha uzun çubuklar şeklinde, bazen daha kısa çubuklar şeklinde bazen de Y şeklinde

dallanmalar veren formlara sahiptir. Hareket kabiliyeti yavaş olan bu bakteri var olan hareketliliğini peritrik flagellaları sayesinde sağlamaktadır (Bilgehan, 2002).

E. coli, zenginleştirilmiş besiyerlerinde fakültatif anaerob olarak üreyebilmektedir. Bu sebeple buyyon, peptonlu su ve jeloz gibi besiyerleri üreme ortamı olarak uygundur. Ortam şartları açısından ise optimum üreme sıcaklığı 37 °C ve optimum ortam pH'sı 7,2 olarak bildirilmiştir. Ancak farklı sıcaklıklarda da üreme potansiyeli olduğu belirlenmiştir. 18-44,5 °C sıcaklık aralığında ve pH= 5-8 değerlerinde üreme gerçekleştiği fakat bu üremenin normalden daha yavaş olduğu bildirilmiştir. 44 °C' de laktozu fermente edebilme özelliği ve indol oluşturma yeteneği diğer laktoz fermente edebilen koliform bakterilerden ayırt edilmesinde kullanılır (Bilgehan, 2000).

Besiyerlerinde fiziksel görünüm olarak bakıldığında *E. coli*, çapı 1-2 mm olan düzgün-yuvarlak ve hafif kabarık biçimde parlak S tipi koloniler şeklinde ürerler. Agar besiyerlerinde *E. coli* kolonileri daha küçük, önce saydam zaman geçtikçe beyaz bir forma dönüşür. MacConkey besiyeri kullanıldığında ise düz, kabarık ve parlak pembe koloniler görülür. Besiyeri olarak CLED (Cistein Laktoz Elektrolit Deficient) agar veya XLD (Xylose Lysine Deoxicholate) agar kullanılırsa sarı renkli *E. coli* kolonileri görülür. Çoğunlukla İYE'larından izole edilen *E. coli* izolatları kanlı agar besiyerlerinde hemoliz oluşturmaları ile karakterizedir (Russo ve Johnson, 2000; Bilgehan, 2002).

Sıvı besiyerlerinde ise *E. coli*' nin homojen dağılımlı bir bulanıklık meydana getirdiği görülür. *E. coli* suşları nutrient agarda 24 saatlik süreç sonrası düzgün hatlara sahip, ortadan kabarık, 2-3 mm çap büyüklüğünde S tipi pigmentsiz koloniler oluşturur. (Dobrindt, Blum-Oehler ve Hartsch, 2001). Eozin Metilen Blue (EMB) agarda ise laktozu fermente etmesi nedeniyle metalik refle veren yeşil-siyah koloniler meydana getirirler (Erdem,1999).

Biyokimyasal özelliklerine bakıldığında; *E. coli* türlerinin hepsi triptofandan indol sentezlerler. Sıvı besiyerinde üzerine metil kırmızısı damlatıldığında pozitif olarak kabul edilen kırmızı renk ortaya çıkar (Bu rengin sarı olması negatif olarak değerlendirilir). İndol, Metil Red, Voges Proskauer, Citrate (IMViC) testleri olarak bilinen sitratlı besiyerlerinde üreme göstermezler. Değer olarak ifade edildiğinde IMViC testleri (++--) olarak ifade edilir.

Mikroorganizmalarda enzim aktivitesini ve fenil alanini yükseltgeyerek amin grubunu koparmak sureti ile fenil pirüvik asit sentezleme (ortam pH sını düşürmede görev yapar) kapasitesini belirlemede kullanılan fenil alanin deaminaz testi *E. coli* için negatiftir. *E. coli* üreyi amonyağa dönüştüremediği ve için üreaz testi de negatiftir.

Diğer yandan yapısında indol halkası bulunan triptofandan indol sentezleyen *E. coli*, sentezlenen indolün çeşitli bileşiklerin yapısına katılmasına yardımcı olur. Bununla birlikte genellikle hidrojen sülfür (H₂S) oluşturmazlar (Einstein ve Zalesnik, 2000). Sodyum tiyosülfattan oluşturduğu durumlarda ise, oluşan H₂S besiyerinde bulunan demir iyonlarıyla reaksiyona girmesi sonucu siyah renk oluştururlar (Winn ve ark., 2005).

Diğer biyokimyasal özelliklerine bakıldığında *E. coli* için Tablo 1'deki gibi bir düzenleme yapılabilir.

Tablo 1. *Escherichia coli*'nin biyokimyasal özellikleri (Erdem, 1999; Töreci, 2002).

Reaksiyon veya Test Türü	Pozitif	Negatif
Glikozdan asit ve gaz oluşumu	✓	
Laktoz, maltoz, trehaloz, L-ramnoz, L-arabinoz, D-sorbitol, D-ksiloz, D-mannitol ve D-mannozu fermente etmesi	✓	
D-arabitol, eritrol, sellobioz, adonitol, inositolü fermente etmesi		✓
Nitrati indirgeme reaksiyonu	✓	
Metil kırmızısı, lizin dekarboksilaz, katalaz, ONPG deneyleri	✓	
25°C'de DNAz, fenilalanin deaminaz, oksidaz Voges-Proskauer, lipaz deneyleri		✓
İndol sentezi	✓	
Üreaz		✓
H ₂ S oluşumu	✓	✓
KCN (Potasyum siyanür) ve tek karbon kaynağı olarak sitratta üremesi		✓

Karmaşık bir antijen yapısına sahip olan *E. coli*'nin antijen yapısı, 1944 yılında Kauffmann tarafından ilk kez düzenlenmiştir. Serolojik olarak düzenlenen bu grupta, hücre duvarının lipopolisakaritlerinde yer alan O-spesifik polisakarit zincirleri dikkate alınmıştır. H ve K antijeni dikkate alınarak da

serotiplendirme yapılmıştır (Colle ve ark., 1996; Stamm ve Staplon, 1998; Brooks, Butel ve Morse, 2001).

Günümüze kadar yapılan tanımlamalar dikkate alındığında 170'den fazla O-antijeni tespit edilmiştir. Bu kadar fazla olmasa da 100'den fazla K-antijeninin ve 50'den fazla H-antijeninin olması, bu karmaşık antijen yapısını açıklamaktadır. Toplamda ise 1000'den fazla antijen olması ise karmaşık antijen yapısı bilgisini daha anlamlı hale getirmektedir (Colle ve ark., 1996; Stamm ve Staplon, 1998; Brooks ve ark., 2001).

O-Antijeni; bakterinin hücre çeperinde bulunan lipopolisakkaritin dış kısmının polisakkarit kısmından oluşur. Alkol ve ısıya dirençli, formole dirençsizdir. *E. coli* antijenleri, *Yersinia*, *Shigella*, *Providencia*, *Salmonella* ve *Citrobacter*'lerin O-antijenleri ile reaksiyon yatkınlığı açısından birbirine benzeyen ve karışabilecek çapraz reaksiyonları verme kabiliyetine sahiptir. Enfeksiyonların ekseriyeti az sayıdaki O-antijenleri ile gerçekleşir. O-antijeni içeren *E. coli* serotiplerinin yalnızca %8-10'u, idrar yolu enfeksiyonlarının ortalama %65'ini oluşturmaktadır. Sıklıkla idrar yolları enfeksiyonlarında rastlanan serotipler O:1, O:2, O:4, O:6, O:7, O:8, O:9, O:11, O:18a, O:18b, O:22, O:25, O:50 ve O:75'tir (Einstein ve Zalesnik, 2000; Erayman, Erayman ve Arıbaşı, 2001; Norrby, 2003).

H-Antijeni; Protein yapısında olan, kirpik kısmı antijeni olarak bilinmektedir. Formole karşı dirençli olmasına karşın alkol ve ısıya dayanıklı değildir. Ayrıca proteinleri sindiren enzimler olarak bilinen proteolitik enzimlere karşı da dirençleri yoktur. O-antijenleri diğer bakterilerin O-antijenleri ile çapraz reaksiyon verirken, H-antijenleri diğer bakterilerin H-antijenleri ile çapraz reaksiyona olanak tanımazlar (Bilgehan, 2002).

K-Antijeni; Polisakkarit yapısında olan ve kapsül antijeni olarak bilinmektedir. Isıya dayanıklılığı olmayan bir antijen türüdür. K-antijenlerinden K:1, K:2, K:3, K:5, K:12 ve K:13 antijenlerini içeren *E. coli* türleri idrar yolu enfeksiyonlarında pyelonefritten sorumlu tutulmaktadır. Bunların içerisinde ise en sık rastlanan K:1 antijenidir. K:1 antijeni bakterinin opsonizasyonuna ve koplemana bağlanmasını önlemektedir. Aynı zamanda fagositoza da engel olduğu bildirilmiştir. K:1 antijeni bunu gerçekleştirirken, bakteri yüzeyine ya hidrofilik ya da negatif özellik kazandırır ve bu sayede hem opsonizasyona hem de fagositoza engel olur. Ayrıca antikorların

antimikrobiyal etkisini artırma veya tamamlama yeteneği olarak tanımlanan kompleman yolunu inhibe eder ve bu sistemin bakteri öldürücü etkisini engeller (Dieckhaus, 2003).

2.2.2. *Escherichia coli* Patotiplendirmesi

Kommensal olanlar dışındaki *E. coli*'ler, klinik seyrine ve moleküler özelliklerine göre 2 grupta incelenmektedir. İntestinal (bağırsakta oluşan) *E. coli* ve ekstraintestinal (bağırsak dışı) *E. coli* patojen olup enfeksiyona neden olmaktadır (Omerovic, Müştak ve Kaya, 2017).

Kommensal *Escherichia coli*: Kommensal *E. coli* sağlıklı insanlarda bağırsak florasında bulunur ve intestinal sistemde enfeksiyon etkeni değildir. Bunun yanı sıra konakçının bağışıklık sistemi zayıflamadığı sürece intestinal sistem dışında da enfeksiyon yapmazlar. Patojen *E. coli*'ye ait virülens genleri de taşımazlar. Filogenetik olarak çoğunlukla A grubunda yer alırlar (Russo ve Johnson, 2000).

İnsanların normal bağırsak florasında birçok göreve sahip *E. coli*, florada bulunan diğer bakterilerle denge halinde olması durumunda bir hastalığa neden olmaz. Ancak bu dengenin sağlanamaması durumunda hem bağırsakta hem de bağırsak dışında hastalığa neden olabilmektedir (Kılınç, 2013). Enfeksiyon yapan *E. coli*'ler ortaya çıkardıkları enfeksiyon türüne ve taşıdıkları virülens genlere göre gruplandırılmaktadırlar. Oluşturduğu enfeksiyonları intestinal (bağırsakta) ve ekstraintestinal (bağırsak dışında) olmak üzere iki şekilde gerçekleştirmektedir (Omerovic, Müştak ve Kaya, 2017).

İntestinal (Bağırsakta Oluşan) *Escherichia coli*: Bağırsakta görülen *E. coli* enfeksiyonları fizyopatolojilerine göre farklı tipler tarafından oluşturulmaktadır.

Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC); genellikle gelişmekte olan ülkelerin sorunu olan, özellikle yaşamın ilk günlerinden itibaren ishallerine neden olan en önemli *E. coli* tipidir. Ayrıca gelişmemiş ve az gelişmiş ülkelerde uzun süre seyahat eden yolcularda da görülen bu tip önemli oranda sıvı kaybına neden olmaktadır (Arslan, 2008). Kolera tarzında seyreden ve ısıya dayanıklı enterotoksin oluşturarak ishale yol açmaktadır (Arıkan, 1992).

Enteropatojenik *Escherichia coli* (EPEC); ilk olarak 1955 yılında tanımlanmıştır. Yetişkinlerde pek görülmemekle birlikte, özellikle 2 yaş altındaki

çocuklar ile bebeklik döneminde görülen ishallere sorumludur. Kreş ve hastanelerin çocuk servislerinde ciddi salgınlara neden olur. Herhangi bir enterotoksin üretmeden, bağırsak mukozasına tutunup, mukozada bulunan mikrovillere zarar vererek ishal oluştururlar. Belirtileri arasında hipertermi, kusma ve mukuslu ishal bulunmaktadır. EPEC çocuklarda büyüme ve gelişmede geriliğe, ağırlık kaybına, sıvı elektrolit dengesinin bozulmasına ve en önemlisi kronik ishallere neden olabilmektedir (Arıkan 1992; Kahraman, 2010).

Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC); gıda ve su yoluyla bulaşabileceği gibi enfekte kişiden sağlam kişiye de bulaşabilir. Çocuklarda ve gençlerde daha sık görülen enfeksiyon daha çok gelişmiş ülkelerde görülmektedir (Kongur, 2017). İlk olarak basit bir ishal olarak başladıktan sonra kalın bağırsağı enfekte ederek bağırsakta ülsera neden olup kanlı ishale dönüşmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu sürecin akabinde hemolitik üremik sendroma (HÜS) neden olmaktadır. Bu grupta yer alan *E. coli*'ye ait olan en önemli özellik Shiga toksin (STEC) veya verositotoksinlerin (VTEC) üretilmesidir (Ateş, 2019). En çok izole edilen EHEC serotipi O157:H7'dir (Berkiten, 2005).

Enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC); kronik ishallere en önemli nedenlerinden biridir. Her yaşta insanda görülebilmektedir. HIV başta olmak üzere immün yetmezliği olan hastalarda da kronik ishallere de sorumludur. Hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde görülebilmektedir (Ateş, 2019). En karakteristik özelliği bağırsaklardaki epitel tipi-2 hücrelerine yapışarak yığılmış tuğla oluşturmasıdır (Hasanlı, 2020).

Enteroinvazif *Escherichia coli* (EIEC); enterotoksin üretmeyen bu etken özellikle çocukların bağırsak epitelinde hasara yol açar. Birçok yönüyle *Shigella* türlerine benzemektedir. Hastalık yapma sistemleri aynıdır. Hastalarda hipertermi, kramp tarzı şiddetli karın ağrısına ve kanlı ishallere neden olmaktadır. Dizanteri tarzı ishallere neden olur (Kılınç, 2013).

Diffuz Agregatif *Escherichia coli* (DAEC); çocuklarda hastalık yapma potansiyeli oldukça yüksektir. Gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde görülmektedir. Bağırsak mukozasını düzgün bir şekilde kapladığından ötürü difüz-yapışma olarak bilinmektedir. Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarının da nedeni olabilmektedir (Hasanlı, 2020).

Ekstraintestinal (Bağırsak Dışı) *Escherichia coli*: Bağırsak dışında hastalık yapan *E. coli* tipleri ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) olarak adlandırılmaktadır. Yaşamın her döneminde ve farklı organlarda görülebilir. Bağırsak dışı dokularda patojen özelliğe sahiptirler. Bu duruma katkı sağlayan faktörler adezinler, kapsül, aerobaktin, hemolizin gibi virülens faktörleridir (Arslan, 2010).

ExPEC'in 3 farklı patotipi bulunmaktadır.

Yenidoğan Menenjit *Escherichia coli* (NMEC); yenidoğanlarda beyin zarını kaplayarak çok ciddi enfeksiyona neden olan bakteriyal menenjitin en önemli etkenleridir. Gelişmekte olan ve gelişen ülkelerde görülmektedir. Tüm dünyada mortalite ve morbidite oranı yüksek olup oldukça bulaşıcıdır (Hasanlı, 2020).

Avian Patojenik *Escherichia coli* (APEC); insanlarda alveollerin iltihabı (alveolitis), kalp zarı iltihabı (pericarditis), sepsis ve selülit gibi enfeksiyonlara neden olurken, kanatlı hayvanlarda da enfeksiyon oluşturabilmektedir (Sadeqy, 2020).

Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC); üriner sistem üzerinde enfeksiyona neden olan *E. coli*, üropatojen *E. coli* (UPEC) olarak isimlendirilmektedir. Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC), dünya çapında önemli morbidite ve mortalite ile hem toplum içi hem de hastane ortamlarında idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) en yaygın nedenidir (Davis, 2011). İnsanlarda görülen idrar yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %90'ından sorumlu başlıca etkenlerdir (Foxman ve Brown, 2003; Subhadra ve ark., 2018). UPEC mesane duvarına yapışıp hücreyi istila ederek hastalığa neden olur. Yapışabilme özelliği UPEC'in hastalık yapma yeteneğinin en önemli faktörüdür (Sadeqy, 2020). UPEC sahip olduğu virulans faktörler sebebiyle bağırsakta bulunan *E. coli* suşlarına göre farklılık göstermektedir (Kongur, 2017).

ExPEC izolatının patotip olarak UPEC olup olmadığı, UPEC için tanımlanan birçok virülens faktörü ve kolonizasyon şekli bulunmasına rağmen, tek bir özellik ile belirlenmemektedir. İzole edilen *E. coli*'nin filogenetik gruplandırması yapılabilmemesi mümkün olan en fazla virülens özellik irdelenerek UPEC varlığının ortaya konması sağlanabilmektedir. (Wiles, Kulesus, Mulvey., 2008).

2.2.2.1. UPEC Virülens Faktörleri

Kapsül: Bakterilerin dış kısmında bulunan, belirlenip ve yok edilmesini önleyen kısma kapsül denir. Özellikle kan serumu ile nötrofillere karşı bakteriye direnç kazandırmaktadır (Kılınç 2013). Polisakkarit yapıda olan kapsül, biyofilm oluşturma ve antimikrobiyal dirençte de önemli bir rol üstlenmektedir. Hemen hemen tüm idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* ler kapsüle sahiptir (Kongur, 2017).

Adezinler: Adezinler üropatojenitenin en yaygın faktörlerindedir. Hücresel yanıtın başlamasında ve bakterinin hücre içine girmesinde etkili olan adezinler, virülens özellikleri farklı şekillerde sağlayabilir. Bunlar hücresel iletim yollarını doğrudan etkileyerek, konakçı hücrelere bakteriye ait ürünleri iletmek ve bakterinin yüzeye tutunmasına ve invazyonuna yardım etmek şeklindedir (Mulvey, 2002). İdrar yolu enfeksiyonlarından sorumlu *E. coli*'nin en yaygın adezin kodlayan genleri *sfa*, *pap* ve *afa* dır (Tarchouna ve ark., 2013).

Etkenlerin yüzeylere yapışıp tutunmasını sağlayan ipliksi yapılara pili veya fimbria adı verilmektedir. Bu özelliği sayesinde bakteri idrar yoluna ait yapılara kolayca tutunarak enfeksiyona neden olmaktadır (Johnson, Normark ve Rhen, 2005). S fimbrialar adezyon ve koloni oluşturmada önemli katkı sağlarlar. *sfa* geni aracılığıyla kodlanırlar. Çoğunlukla ağır idrar yolu enfeksiyonlarından sorumludur (Jahandeh ve ark., 2015). P fimbrialar, *pap* genleri aracılığıyla kodlanan en önemli adezinlerdir. Özellikle böbrek nakli olan kişilerde oldukça yaygın olarak bulunan bir virülens faktördür. P pili 37°C'de oluşmaktadır. UPEC'lerde P pili oluşturmayan adezinler de vardır (Bien, Sokolova ve Bozko, 2012). Tip 1 fimbrialar, *fim* geni aracılığıyla kodlanıp; koloni oluşturma, inflamasyon, biyofilm oluşturma adezyon ve hücre içi canlılığın devamında görev alırlar. Üriner sistem enfeksiyonlarının hemen hemen tümüyle ilişkileri vardır (Schembri ve Klemm, 2001).

Dr Adezinler, *dra* geni aracılığıyla kodlanırlar. Dr adezinleri eksprese eden *E. coli* suşlarının genellikle kompleman regülatörle etkileşimi sonucu epitel hücreleri invaze ederek sistite neden olduğu bilinmektedir (Topçu, Söyletir ve Doğanay, 2008).

Afimbrial adezinler *a* geni aracılığıyla kodlanırlar. Pili bulundurmazlar. Koloni oluşumunda görev almakla birlikte kronik ve tekrarlayan sistite neden olmaktadır (Jahandeh ve ark., 2015).

Hemolizin: Hemolizin eritrositlere etki edebileceği gibi lökosit ve bulunduğu dokuda da hasara yol açacak bir toksindir. Alfa, beta, gama ve entero hemolizin olarak farklı tipleri mevcuttur. Isıya karşı hassastırlar ve normal *E. coli* 'ye göre oldukça dayanıklıdırlar (Brooks ve ark., 2004)

Hemolizin *hlyA* geni tarafından kodlanmaktadır. Bu toksin böbreklerde sitokin üretimini çoğaltır. Ağır idrar yolu enfeksiyonlarında önemli bir etkindir (Ebrsprächer, Hugo ve Bhakdi, 1989).

Sitotoksik Nekrotizan Faktör-1: Hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açan bu toksin aynı zamanda apopitoz ve beyin dokularında lizise yol açmaktadır. *cnf-1* geni aracılığıyla kodlanmaktadır. Ağır seyreden idrar yolu enfeksiyonları ve menenjit ile yakın ilişkileri bulunmaktadır (Fiorentini ve ark., 1997).

Aerobactin: UPEC' de oldukça sık karşımıza çıkan demir bağlama potansiyeli olan bir proteindir. Aerobactin bakteri metabolizmasının aerobik olarak devamı için ve bakterinin çoğalması için oldukça önemlidir. Piyelonefrit etkeni olan *E. coli* 'lerde oldukça yüksek düzeyde bulunmaktadır (Ünsal, 2018). Aerobactin *aer* geni tarafından sentezlenmektedir (Koczura ve Kaznowski, 2003).

Siderofor: Sideroforlar, UPEC'i de içinde bulunduğu çeşitli bakteriler tarafından çevreye salınan moleküllerdir. Kandaki demir iyonlarını toplar. Kanlı ishaller başta olmak üzere birçok enfeksiyonda bakterinin büyümesi için ihtiyaç duyduğu demiri temin eder. Gerekli olan demir idrar yollarında sınırlı oranda bulunur. *E. coli* gelişimi için ihtiyaç duyduğu demiri sideroforlar aracılığıyla sağlar. Siderofora bağlanmış demir kompleksinin bakteri membranından ve sitoplazmadan geçişi kolaylaşmaktadır (Chaturverdi ve Hung, 2012; Subashchandrabose ve Mobley, 2015).

Hareket: Bakterinin hareket yetisinin olması onu virülen yapan önemli özelliklerden biridir. Bu özellik idrar akım yönünün tersine hareket edip üst dokulara da ulaşmasına ve oraya yerleşip hastalık yapmasına neden olmaktadır (Ünsal, 2018). Hareketi sağlayan Flagella H antijeni taşıyanları *flic* geni aracılığıyla kodlanmaktadır (Jahandeh ve ark., 2015).

2.2.3. *E. coli*'nin Filogenetik Gruplandırması

Filogenetik gruplama, izole edilen etkenin kökenlerinin belirlenmesinde ve virülens genlerini araştırmada kullanılan yöntemdir. *Escherichia coli* için filogenetik

gruplarına ait çalışmalar uzun zamandır irdelenen bir konudur. Yapılan çalışmalara göre filogenetik olarak dört gruptan oluşmaktadır. A, B1, B2 ve D gruplarına ayrılan *E. coli* bu gruplandırma ile virülens faktörler yönünden de bilgi vermektedir (Herzer ve ark., 1990). B2 grubu “atasal yol izlerine” sahipken; A grubu ve B1 grubu kardeş gruplar olarak bilinmektedir. Grupların arasında, genom boyutları açısından da farklılıklar bulunmaktadır. A ve B1 gruplarının genom boyutları B2 ve D gruplarına oranla daha küçüktür (Gordon ve ark., 2008). A ve B1 filogenetik gruba ait olan *E. coli*’ler kommensal ve bağırsakta meydana gelen enfeksiyonlardan izole edilirken B2 ve D filogenetik gruba ait olan *E. coli*’ler ise daha çok bağırsak dışı enfeksiyonlardan izole edilmektedir. Ürovirülens genler olan *pap*, *hly*, *kps* ve *sfa/foc* bulunduran *E. coli*’ler genellikle B2 ve D grubundadır. *iuc/iut afa/dra*, ve *traT* gibi genler ise tüm gruplarda görülebilmektedir. (Picard ve ark., 1999; Johnson ve Russo, 2005; Escobar Páramo ve ark., 2006; Feng ve ark., 2017). Ayrıca, gruplar arasında antibiyotik direnci açısından da farklar bulunmaktadır (Gordon ve ark., 2008).

Bu gruplar karbonhidratları kullanma yetenekleri, antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç durumu ve sıcaklık/üreme ilişkileri yönünden birbirlerinden farklılık göstermektedir (Kongur, 2017).

Filogenetik gruplandırmayı yapabilmek için ribotiplendirme ve multilokus enzim elektroforezi yöntemi kullanılabilir. Ancak bu yöntemler karmaşıklığa ve zaman kaybına neden olmaktadır. Oysa ki Polimeriz Zincir Reaksiyonu (PCR) daha kısa sürede ve karmaşıklıktan uzak bir şekilde filogenetik olarak gruplandırılabilirler (Bingen, Denamur ve Elion, 1994; Kongur, 2017). PCR tabanlı yöntemin çalışma prensibi *chuA* ve *yjaA* genleri ile TSPE4.C2’nin (isimsiz DNA fragmanı) olması veya olmamasına dayalı olarak değerlendirme yapılmaktadır (Clermont, Bonacorsi ve Bingen, 2000).

Son yıllarda filogenetik gruplandırmaya ilişkin çalışmalarda yeni gruplar tanımlanmıştır. C, E, F ve Clade 1 olarak isimlendirilen bu grupların çok yaygın bir kullanımı yoktur (Clermont ve ark., 2013).

Filogenetik gruplama ile yapılan bir çalışmada İYE şikâyeti olan 93 çocuktan izole edilen *E. coli* izolatlarının %66’ı B2 grubunda, %25’i D grubunda, %7’si A grubunda ve %2’si B1 grubunda olduğu belirtilmiştir (Houdouin ve ark., 2007). Yapılan bir başka çalışmada analiz edilen 138 *E. coli* izolatından en yaygın olarak B2

grubu (%61,6), ardından D grubu (%26,8), A grubu (%8,7) ve B1 grubu (%2,9) tespit edilmiştir olup, izole edilen tüm suşların çoğunluğunu B2 ve D grupları oluşturduğu (%88,4) bildirilmektedir (Choi ve ark., 2012). Burdet ve arkadaşları (2014), 18 yaş altı 84 hastadan izole ettikleri izolatlar ile yaptıkları çalışmada filogenetik gruplandırma A grubunu %8,3, B1 grubunu %3,6, B2 grubunu %63,1 ve D grubunu %11,9 oranlarında bulmuştur. Aynı yıl yapılan bir diğer çalışmada ise idrar örneklerinden izole edilmiş toplam 89 *E. coli*'nin filogenetik gruplandırmasında en yaygın B2 (%57), ardından D (%20), A (%18) ve B1 (%5) grupları tanımlanmıştır (Koljalg ve ark., 2014).

2.3. Tanı

İYE, çocuklarda semptom vermeden gelişebileceği gibi çok ciddi semptomlarla da ortaya çıkabilecek geniş bir yelpazeye sahip bir enfeksiyon türüdür. Bu sebepten ötürü sonrasında gelişebilecek komplikasyonlar yönünden, hastaya ilişkin klinik değerlendirme çok iyi yapılmalıdır (Sobel, 1997; Erdoğan ve Öner, 2002; Hansson ve Jodal, 2004). İYE' de iki yaş altı çocuklarda en sık rastlanan bulgular hipertermi, kusma, iştahsızlık ve büyüme gelişme geriliğidir. 2-5 yaş arası çocuklarda karın ağrısı ve hipertermi şeklinde kendini göstermektedir. 5 yaş üzerinde ise belirtiler artış göstermekte olup, düzensiz sık idrara çıkma, karın ağrısı, dizürisi, kötü kokulu idrar, yüksek ateş, bulantı, kusma, idrar kaçırma, konstipasyon, kostavertebral bölgede hassasiyet, bel ve yan ağrısı ile karşılaşılabilir. Adolesan kız çocuklarında ise sıklıkla dizüri eşlik etmektedir. Dizüri bulgusu olan çocukların yaklaşık %20'sinde İYE bulunmaktadır (Jantausch ve Kher, 2007).

Klinik bulgular neticesinde İYE şüphesi olan hastalarda tam idrar analizi yapılmalıdır. Yapılan analizin en önemli iki bulgusu bakteriüri ve piyüri tespit edilmesidir.

Bakteriüri: İdrar örneğinin direkt olarak mikroskopta 40'luk büyütme ile incelenmesi sonucu her sahada en az bir bakterinin tespit edilmesi olarak ifade edilmiştir.

Piyüri: İdrar örneğinin alındıktan sonra santrifüj edilip mikroskopta 40'luk büyütme ile incelenmesi sonucu her sahada 5 ve daha fazla sayıda lökosit tespit edilmesi şeklinde tanımlanmıştır (Hansson ve Jodal, 2004).

İYE tanısında tam idrar analizi enfeksiyonun varlığını ortaya koyabilir ancak etken hakkında bilgi veremeyeceğinden dolayı idrar kültürüyle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. İdrarın toplanma şekli ve klinik bulgular doğrultusunda idrar kültürü değerlendirilmektedir (Hansson ve Jodal, 2004). İYE olmasına rağmen uygun biçimde toplanmayan idrar örneklerinde doğru değerlendirme yapılamayacağı belirtilmektedir. Steril kaplara alınan idrar örnekleri zaman kaybetmeden uygun besiyerlerine ekimleri gerçekleştirilmelidir. Hemen ekim yapılamayacaksa +4 °C'de buzdolabında en fazla 24 saat kadar muhafaza edilebilmektedir (Jones ve Asscher, 1992).

2.3.1. *E. coli* Tanılama Yöntemleri

İYE'ye neden olan *E. coli*'yi tanımlamak için, kimyasal özelliklerinden yararlanılarak ve uygun üreme ortamı sağlama prensibine dayalı konvansiyonel tanılama yöntemlerinin yanı sıra, daha spesifik tanımlama için antijenik özelliklerine dayalı serotip analizleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin dışında *E. coli*'ye ait virülens genlerinin belirlenmesi amacıyla moleküler yöntemlerin de kullanıldığı bildirilmektedir (İlçebayık, 2020).

Kültürel Yöntemler: *E. coli*'nin tanımlanması için çeşitli besiyerlerine ekim yapıldıktan sonra, besiyerlerindeki koloni görünümüne göre değerlendirme yapılabilmektedir. *E. coli* genel besiyerlerinde kolayca üreyebilen bir bakteridir. *E. coli* izolasyonu ve identifikasyonunda seçici ve ayırıcı besiyerlerinden EMB ve MacConkey agar kullanılmaktadır. Bu besiyerlerinde *E. coli*'nin laktozu kullanmasına bağlı olarak ve ortam pH değerinin değişmesine bağlı olarak koloniler renkli görünmektedir (Arda, 2011). EMB agarda siyah metalik koyu yeşil koloniler oluşurken MacConkey agarda parlak pembe koloniler oluşturduğu bilinmektedir. Ayrıca kanlı agarda hemoliz yapma özelliğine de sahip oldukları ifade edilmektedir. 18-44 °C'de üreme özelliğine sahip çoğunlukla hareketli olan *E. coli*'nin mikroskopik görüntüsü sporsuz çomak şeklinde ve Gram negatif olduğu tanımlanmaktadır. Üremesi sırasında şekerden gaz ve asit oluşturmakla birlikte, indol, metil red testleri pozitif ve nitratı indirgedikleri ve bunun yanı sıra Voges Proskauer ve oksidaz testlerinin negatif oldukları bilinmektedir (Koneman ve ark., 1997).

Serotiplendirme: Serotiplendirme, *E. coli*'nin patojenik suşlarının belirlenmesi için başlıca teşhis yöntemlerinden biri olarak kullanılmaktadır. Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC), ekstraintestinal patojenik *E. coli*'nin daha geniş sınıflandırmasının içinde heterojen bir suş grubu olduğu bilinmektedir. UPEC'lerin çoğunun B2 ve D filo gruplarına ait olduğu ve O (lipopolisakarit) serotipine göre sınıflandırıldıkları ifade edilmektedir. UPEC izolatlarının %58'inin sekiz serogruptan (O1, O2, O4, O6, O8, O9, O18 ve O83) birine ait olduğu bildirilmektedir (Blanco ve ark., 1994; Blanco ve ark., 1996). İdrar yolu enfeksiyonlarında patojenite açısından daha çok K1 ve K2 antijeni taşıyan *E. coli*'lerin olduğu bildirilmektedir (Dieckhaus, 2003). H antijenleri flagellaya ait bir parça olduklarından hareketli *E. coli* izolatlarında bulunur. *E. coli* izolasyon durumunda hareketsiz ya da az hareketli olabileceğinden dolayı H antijenine bağlı serotiplendirmenin güvenilir olmadığı ifade edilmektedir (Omerovic, Müştak ve Kaya, 2017).

Moleküler Yöntemler: *E. coli* ile ilgili yapılan çalışmalarda, familyasını ve tiplendirmesini belirlemek amacıyla farklı yöntemler kullanılmaktadır. Aynı antibiyotik direnç gösteren familyalar değişik genotiplere sahip olabilirken, değişik direnç profiline sahip olan familyaların genetik açıdan benzer özelliklerde olabildikleri bilinmektedir. Bu sebepten ötürü antibiyotik duyarlılık profillerine dayalı analizlerin tiplendirme yapmakta yetersiz kaldığı bildirilmiştir (Kılıç ve ark., 2003). Bunun yanı sıra bakteriyel izolatların ayırt edilmesinde serolojik ve bakteriyolojik analizlerin de eksik kalabileceği belirtilmiştir (Salehi ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarla birlikte moleküler yöntemlerin kullanılmasında da bir artışın söz konusu olduğu ve sıklıkla kullanılan moleküler yöntemlerin; Random Amplifiye Polimorfik DNA-PCR (RAPD), Restriction Fragment Length Polymorohisim (RFLP), PulsedField Gel Electrophoresis (PFGE), Multilocus Sequence Typing (MLST) ve Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLEE) olduğu belirtilmiştir (Kılıç ark., 2003; Salehi ve ark., 2008; Lau ve ark., 2009; Lau ve ark., 2008). Aynı patotiplere sahip familyalar genetik açıdan benzer oldukları için, enfeksiyon oluşumu sırasında benzer virülens faktörleri taşımalarından dolayı moleküler çalışmalarda bu faktörlere ait genetik incelemenin yapılması *E. coli*'nin hastalık potansiyelinin belirlenmesinde fayda sağlayacağı belirtilmektedir. *E. coli*'ye ait patotiplerin belirlenmesinde PCR, DNA-DNA

hibridizasyon, Multiplex PCR ve genom sekanslaması çalışmaları mevcuttur (Bekal ve ark., 2003; Palaniappan ve ark., 2006).

2.4. *E. coli*' nin Direnç Özellikleri

Canlı kalma şartları dikkate alındığında çevresel koşullara karşı *E. coli*'nin oldukça dirençli bir bakteri olduğu görülmektedir. 55-60 °C aralığındaki sıcaklıkta bir saate kadar, oda şartlarında ise uzun süre yaşayabilir. Soğuk şartlara da direnci oldukça fazladır (Erayman ve ark., 2001; Bilgehan, 2002).

E. coli dezenfektanlar ile temas ettirildiklerinde duyarlı oldukları görülür. Bunun dışında safra ve safra tuzlarına, bazı boyalara (fuksin, melaşit yeşili) ve %7'lik NaCl' e karşı da duyarlıdır, inaktif olur (Erayman ve ark., 2001; Bilgehan, 2002).

2.4.1. Antibiyotik Direnci

E. coli'nin doğal direnç gösterdiği ilaçlar benzilpenisilinler, rifampisin, linkozamidler, makrolidler, streptograminler, glikopeptidler, fusidik asit, linezolide ve daptomisinlerdir. Burada söz konusu olan direnç bakterilerde sıklıkla rastlanan kromozom veya plazmid eşliğinde gelişir. Kromozomal direnç, ilacın hedefindeki gende mutasyon olması ile kazanılabileceği gibi, ilacın tutulumunu sağlayan membran taşıma mekanizmasını kodlayan gendeki mutasyon ile de olabilmektedir.

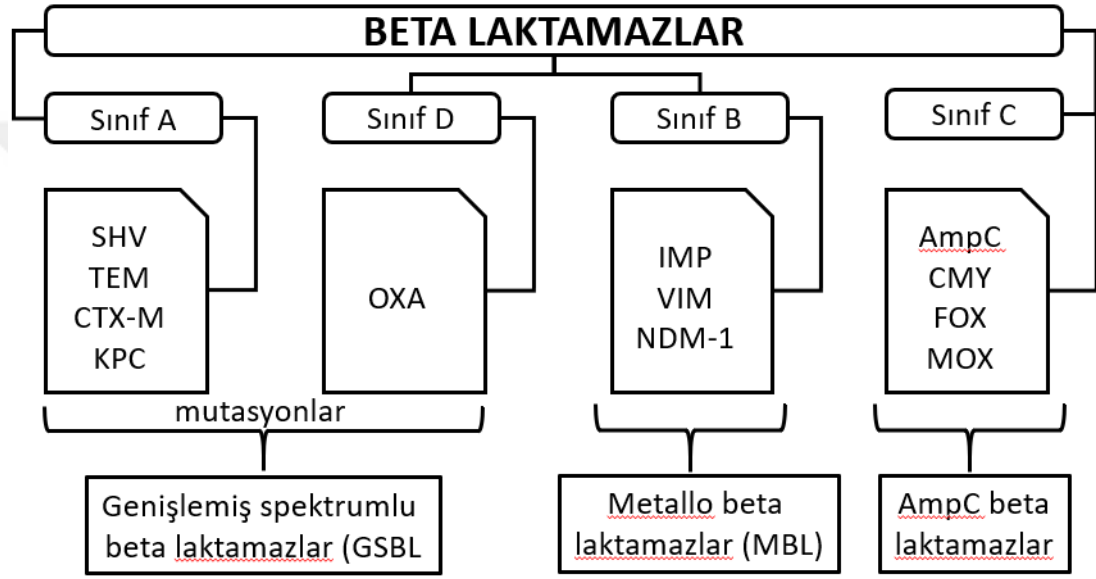
R faktörleri ile tanımlanan direnç plazmidleri, farklı türde DNA molekülleri içeren, antibiyotikleri parçalayabilen ve membran taşıma mekanizmasını değiştiren enzim genlerini taşımaktadırlar. Bulaşıcı direnç plazmidleri ise bakteriden bakteriye geçebilen bir özelliktir. Bu plazmidlere sahip olduğunda bakteri, trimetoprim-sulfametoksazol, aminoglikozid, tetrasiklin, florokinolon ve amoksisiline dirençli hale gelmektedir (Erayman ve ark., 2001; Bilgehan, 2002).

β -Laktamaz Direnç Mekanizmaları: Bakterilerin direnç mekanizmalarındaki en yaygın olan durumlardan bir bakterilerin salgılamış oldukları enzimler aracılığıyla antibiyotikleri etkisiz hale getirmeleridir β -Laktamazlar Gram negatif birçok bakteri tarafından salgılanan bir enzim olup, ifade edilen direnç durumuna örnek teşkil etmektedir (Cesur ve Demiröz, 2013; Munita ve Arias, 2016).

Beta laktam halkasına sahip antibiyotiklerin, β laktamaz enzimiyle bu halkasının hidrolize edilmesi sonucu, antibiyotiğin bileşenleriyle birlikte kompleks ürün oluşturur. Oluşan bu ürün beta laktamı etkisiz hale getirerek bakterinin direnç göstermesine neden olur (Livermore, 1995).

Bu enzimler bakterilerin plazmid yapısı üzerinde bulunup, integron ve transpozon gibi genetik yapılar tarafından üretilmektedir (Bonnet, 2004).

β -Laktamazların Ghafourian ve ark. (2014) göre sınıflandırılması Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. β -Laktamazların sınıflandırılması

Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar (GSBL): β laktam grubu antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucu özellikle *E. coli* familyasında farklı türlerde GSBL enzimleri tanımlanmıştır. Bu enzimler ilk defa 1980’li yıllarda Federal Almanya Cumhuriyeti’nde izole edilmiştir (EFSA, 2011; Shaikh ve ark., 2015). Sayıları her geçen gün artış gösteren β -Laktamazlar, tüm dünya için önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya başlamıştır (Deniz, 2020). Hasanlı (2020) yapmış olduğu çalışmasında idrarlar örneklerinden %29 oranında GSBL pozitif *E. coli* bulmuştur. Parajuli ve arkadaşları (2017) Nepal’de gerçekleştirdiği çalışmada ise bu oranı %38,9 olarak tespit etmiştir.

Son yıllarda genişlemiş spektrumlu β -Laktamazlardan SHV, TEM, CTX-M ve OXA grubu enzimler sık izole edilmesinden kaynaklı önem arz etmektedir.

SHV (sulphydryl variable) β -Laktamazların; ilk izolasyon 1983 yılında Almanya'da *K. ozaena*'dan olmuştur. Bu enzimler daha çok penisilin ile dar spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç geliştirildiği bildirilmiştir. Ayrıca bu enzimler ampisilin direncinin %20'sinden sorumludur. SHV β -laktamazlar 143 değişik varyasyona sahiptir (Görgeç, 2012). SHV beta laktamlar sık olarak *K. pneumoniae*'da sonrasında ise *E. coli* *C. diversus* ve *P. aeruginosa*'da izole edilmektedir (Paterson ve Bonomo, 2005; Bradford, 2001). Kiratisin ve arkadaşları (2008) 235 GSBL pozitif *E. coli* ile yapmış oldukları çalışmada *bla_{SHV}* geni bulunan oranını %3,8 olarak bildirmişlerdir.

TEM (Hasta Adı: Temoneira) β -Laktamazlar; β -Laktamazlar içerisinde ilk tanımlanan enzimdir. İsmi ilk izolasyonun yapıldığı Yunan bir hasta olan Temoneria ilk üç harfinden almıştır. TEM β -Laktamaz enzimi 200'e yakın değişik varyasyona sahiptir. Bunların 100'den fazlası GSBL fenotipine sahiptir (Görgeç, 2012). İlk tanımlanan varyasyonu TEM'dir. Penisilinleri ve birinci kuşak sefalosporinlerden olan sefaloridin'e ile sefalotin'e karşı dirençlidir. Başta *E. coli* ve *K. pneumoniae* olmak üzere diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinden de izole edilmektedir. Bunların yanı sıra *N. gonorrhoeae* ile *H. influenzae*'nin penisilin ve ampisilin direncindeki artışla da ilişkili bulunmuştur (Schwaber ve Carmeli, 2007; Bradford, 2001). *E. coli* direnç genleri ile ilgili yapılan çalışmalarda %77,0 oranında *bla_{TEM}* geni bulunmuştur (Kiratisin ve ark., 2008). Bir başka çalışmada ise bu oran %88,4 olarak bulunmuştur (Gaddar ve ark., 2020).

CTX-M (Cefotaximase Munich) β -Laktamazlar ise ilk defa FEC-1 olarak 1989'da Japonya'da tanımlanan *E. coli* den izole edilmiştir. 124 değişik varyasyona sahip olan bu enzim aminopenisilinlere, karboksi penisilinlere, üreidopenisilinlere ve dar spektrumlu sefalosporinlere karşı oldukça dirençlidir (Görgeç, 2012). Son yıllarda *E. coli* ve *K. pneumoniae* sıklıkla izole edilmekte olup, hastane enfeksiyonlarıyla da yakın ilişki içindedir. Bunların dışında *V. cholerae*, tifo harici *Salmonella* türlerinde ve *Shigella* spp. gibi bazı enfeksiyonlarda da izole edilmiştir. (Jacoby, 1997; Jacoby ve Munoz-Price, 2005). GSBL direnç genlerine yönelik yapılmış çalışmada *E. coli*'de saptanan *bla_{CTX-M}* geni oranı %99,6 olarak saptanmıştır (Kiratisin ve ark., 2008).

OXA (Oxacillin) β -Laktamazlar; günümüzde görülme sıklığı giderek artan bir enzim olarak karşımıza çıkmaktadır. OXA' nın 232 değişik varyasyonu bulunmaktadır

(Görgeç, 2012). OXA β -Laktamazlar genellikle oksasilin ile kloksasilini hidroliz ederler. *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* ve *E. coli*'de karşımıza çıkmaktadır. OXA familyasının birçok üyesi fonksiyonlarından çok aminoasit dizilimlerine göre tanımlanmıştır. OXA grubunun çoğu enzimi NaCl ile inhibe olmaktadır (Jacoby 1997; Jacoby ve Munoz-Price, 2005; Bush ve Jacoby, 2010; Poirel, Naas ve Nordmann, 2010). Uysal ve arkadaşları (2018) yapmış oldukları çalışmada *bla_{OXA}* gen taşıyan *E. coli* oranını %38,4 olarak bildirmiştir.

PER enzimi; baz dizilimi bakımından SHV ile TEM β -Laktamazlara benzerlik gösterirler. İlk izolasyonu Fransa'da yaşayan bir Türk hastadan elde edilen *P. aeruginosa* suşunda tespit edilmiştir. Bu enzimler klavulanik asite duyarlı, sefasporinler ve penisiline karşı dirençlidir (Dağlar ve Öngüt, 2012). *Salmonella* serovar Typhimurium, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis* gibi *Enterobacteriaceae* üyelerinde ve *V. cholerae* O1 El Tor'da görüldüğü ancak *P. aeruginosa* kadar sık karşılaşılmadığı bildirilmiştir (Görgeç, 2012).

VEB-1 enzimi; PER enzimlerine benzerlik göstermektedir. İlk izolasyonu Vietnam' daki bir *E. coli* suşundan gerçekleşmiştir. VEB-1 enzimi klavulanik asite duyarlı, aztreonama, seftazidim ve sefotaksima karşı oldukça dirençlidir (Dağlar ve Öngüt, 2012).

GES-1enzimi; yukarıdaki iki enzim gibi plazmid aracılığıyla GSBL direnci göstermektedir. İlk izolasyonu Fransa' daki *K. pneumoniae* suşundan elde edilmiştir. Açıklamış olduğumuz bu enzimler genellikle *P. aeruginosa*'da izole edilirler fakat görülme sıklıkları çok yaygın değildir (Endimiani ve ark., 2006).

Bunların dışında SFO, TLA ve BES adı verilen enzimler nadir olarak izole edilen diğer GSBL'lerdir (Naas, Poirel ve Nordmann, 2008).

2.4.2. GSBL Tanılama Yöntemleri

Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar fenotipik ve genotipik yöntemler olmak üzere iki şekilde analiz edilirler. Fenotipik yöntemlerde tarama ve doğrulama testlerinden yararlanılırken, genotipik yöntemlerde ise moleküler analizlerden yararlanılmaktadır.

Fenotipik Yöntemler: Fenotipik tanılama yöntemleri tarama testleri olarak disk difüzyon veya dilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır. İzole edilen *E. coli*'leri CLSI

kriterlerine göre seftazidim, sefotaksim, aztreonam, seftriakson ya da sefpodoksim antibiyotiklerine göre değerlendirilmektedir. GSBL'ler için yapılan tarama testinde değerlendirmede karşılaştırılacak inhibisyon zon çapları ve MİK değeri kriterleri Tablo 2'de verilmiştir (CLSI, 2013).

Tablo 2. GSBL'ler için yapılan tarama testinde değerlendirmede karşılaştırılacak inhibisyon zon çapları ve MİK değerleri

Antibiyotik Adı	İnhibisyon Zon Çapı (mm)	MİK Değeri (µg/ml)	Kullanılan Yöntem
Seftazidim 30 µg	≤ 22	≥ 2	
Sefotaksim 30 µg	≤ 27	≥ 2	
Aztreonam 30 µg	≤ 27	≥ 2	Disk difüzyon
Seftriakson 30 µg	≤ 25	≥ 2	
Sefpodoksim 10 µg	≤ 17	≥ 2	

CLSI, sıvı mikrodilüsyon testinde; Seftazidim, Aztreonam, Sefotaksim, Seftriakson, MİK değerleri ≥2 µg/mL, Sefpodoksim ise MİK değeri ≥8 µg/mL olarak belirlendiğinde veya disk difüzyon testinde; Sefpodoksim zon çapının ≤17 mm, Seftazidim inhibisyon zon çapının ≤22 mm, Sefotaksim ve Aztreonam zon çaplarının ≤27 mm; Seftriakson zon çapının ≤25 mm olduğu durumlarda GSBL varlığı için doğrulama testi yapılmasını önermektedir (CLSI, 2013).

Doğrulama yöntemlerinin mekanizması Klavulanik Asit ile indikatör olan sefalosporinler arasındaki sinerjinin belirlenmesine esasına göre çalışır (CLSI, 2013).

Kombine disk difüzyon yönteminde; 30 µg' lık Seftazidim ve Sefotaksim diskleri ile birlikte bu etken maddelere 10 µg klavulanik asit ilave edilmiş antibiyotik disklerinin besiyerinde 35°C 18 saat inkübasyonu sonrası, Klavulanik Asit ilave edilmiş ve edilmemiş disklerin inhibisyon zon çapları ölçülür. Klavulanik Asit ilave edilen disklerin zon çapının edilmeyenlerden ≥5 mm daha fazla olması GSBL olduğunu ifade eder (Drieux ve ark., 2008).

Çift disk sinerji testinde (ÇDST) ise; besiyerinin kenarlarına birbirleri arasında uzaklık konusunda tam bir standart olmamakla birlikte 25 mm olacak şekilde Seftriakson, Seftazidim veya Aztreonam, Sefotaksim ya da Sefpodoksim antibiyotik diskleri ile merkeze ise Amoksisilin-Klavulanik Asit antibiyotik diski yerleştirilir

(Görgeç, 2012). İnkibasyon sonrası Aztreonam veya Sefalosporin diskinin etrafındaki zonun Amoksisilin-Klavulanik Asit yönünde genişlemesi ya da arasında bakteri üremeyen bir sinerji alanının varlığı GSBL pozitif olarak yorumlanır (Drieux ve ark., 2008). Bir başka deyişle GSBL enziminin Amoksisilin-Klavulanik Asit bulunan ortamda inhibe olarak, β -laktam antibiyotiklerin aktivitesini artırması şeklinde de yorumlanabilmektedir (Demir, 2006).

Ülkemizde yoğun bir şekilde kullanılan ÇDST, GSBL tanımlanmasında kolay ve maliyetinin düşük olması açısından avantajlı bir yöntemdir. Fakat diskler arası mesafede standardın uygulanmayışı, GSBL'lerin tam olarak saptanamamasına neden olabilmektedir. Bu durum ÇDST'nin zayıf yönü olarak belirtilmektedir (Işık, Arslan ve Tuncer, 2007; Kaçmaz, Özenç ve Aksoy, 2005). Aynı izolatlar üzerinde disk mesafeleri değiştirilmek suretiyle GSBL taraması yapılan çalışmalarda, mesafenin azaltılmasıyla daha yüksek düzeyde GSBL oranları saptandığı ifade edilmektedir (Fincancı ve ark., 2003; Gülay, Abacıoğlu ve Yuluğ, 1995). Öztürk ve arkadaşları (2010) yapmış oldukları çalışmada disk difüzyon yönteminin ÇDST' e göre daha duyarlı olduğunu, ancak bu duyarlılığın *E. coli* için anlamlı olmadığını ifade etmiştir.

E-test yönteminde; bir ucuna sefotaksim veya seftazidim diğer ucuna ise bu antibiyotiğe klavulanik asit ilave edilerek hazırlanmış stripler besiyerine yerleştirilip inkübasyona bırakılır. Sonrasında oluşan eliptik zon çapının stripi kestiği yer elde edilen MİK değerini ifade eder. Klavulanik Asit ilave edilmiş ucun zon çapının ilave edilmemiş olan uca göre 8 kat az olması GSBL'nin Pozitif olduğunu ifade etmektedir (Bradford, 2001).

Mikrodilasyon yönteminde ise; tek başına Seftazidim ve Sefotaksim'in MİK değerleri ile bu antibiyotiklere klavulanik asit ilave edilerek elde edilen MİK değeri belirlenir. Klavulanik Asit ilave edilmiş olan MİK değerlerinin 8 kat az olması GSBL varlığını gösterir (Bradford, 2001; Gülay, 2001).

Üç boyutlu testinde; izole edilen bakteri besiyeri yüzeyine aktarılıp baget ile yayıldıktan sonra besiyerine steril bistüriyle yarık açılır. Yarığın içine bakterinin üretildiği sıvı besiyeri ilave edilir. Antibiyotik diskleri hazırlanan yarıktan 30 mm uzaklığa yerleştirilip inkübasyona bırakılır. Sonrasında yarığa doğru olan tarafta, disklerde oluşan inhibisyon zon çapındaki daralma veya bozulma durumu GSBL varlığını ifade etmektedir (Bradford, 2001; Dağlar ve Öngüt, 2012).

Otomatize sistemlerde ise; bakteri izolasyonunda yaygın olarak kullanılan Phoenix ve VITEK 2, Mikro-scan panel testler aracılığıyla GSBL varlığı saptanabilmektedir. Bu sistemler; GSBL varlığını belirlemek için çeşitli algoritmaları işleterek Penisilin, Sefalosporin ve Aztreonam dirençlerini belirleyerek rapor etmektedirler (Dağlar ve Öngüt, 2012). Günümüzde hastanelerin mikrobiyoloji bölümlerinde kısa sürede ve aynı anda birçok izolatu değerlendirme imkânı vermesinden dolayı sıkça kullanılan yöntemler olarak devam edilmektedir.

Genotipik Yöntemler: Fenotipik yöntemlere nazaran özgülüğü fazla olan genotipik yöntemlerle GSBL varlığının yanı sıra üretilen enzimin genotipi de belirlenebilir (Stürenburg ve Mack, 2003).

Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazların identifikasyonunda sıklıkla kullanılan moleküler tanı yöntemleri PCR, DNA problemleri, PCR-RFLP, Real-time PCR, PFGE ve sekanslamadır. Ancak bu yöntemler her daim altın standart olarak görülmemektedir. NCCLS tarafından moleküler yöntemlerle birlikte fenotipik testlerinde kullanılması doğrulamak amacıyla önerilmektedir. Moleküler yöntemler güvenilir ve olması hızlı gibi avantajlara sahiptir. Fakat bu avantajın uzman personel ve de laboratuvar imkânlarının gelişmişlik düzeyiyle alakalı olduğu da unutulmamalıdır (Arlet ve ark., 1995; Fluit, Visser ve Schmitz, 2001, Reid ve Samaras, 2018). Rutinde kullanımı sınırlı olan bu yöntemler daha çok araştırma merkezlerinde ve konuyu detaylı incelemek isteyen araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi; nükleik asitlerin invitro ortamda çoğaltılması esasına dayanır ve Kary Mullis tarafından bulunmuştur (Bush, Jacoby ve Medeiros, 1995). β -laktamaz varlığını belirlemede kullanılan yaygın yöntemlerden biridir. Fakat enzime ait varyasyonların ayrımını yapamadığı için, özellikle gruplara özel primerlerin kullanılması GSBL varlığının ortaya konmasında yarar sağlamaktadır (Pitout, Hossain ve Hanson, 2004).

PCR- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yönteminde ise; amplifiye PCR ürünleri restriksiyon endonükleazlar yardımıyla kesilerek elektroforez aracılığıyla gen ürünlerinin ayrımı gerçekleştirilmektedir. Elde edilen gen ürünlerinin büyüklükleri belirlenmiş GSBL genlerine özgü olmalıdır (Arlet ve ark., 1995).

İzoelektrik odaklama yönteminde; bakteriye ait DNA'nın poliakrilamid jelde yürütülmesinin akabinde β -laktamazların izoelektrik noktalarında (pI) odaklanmaları

beklenmektedir. Bu yöntem sadece enzimin ailesini belirlemeye yönelik bilgi vermektedir (Bradford, 2001).

Oligotiplendirme yöntemi; enzimin nokta mutasyonlarını belirlemek amacıyla oligonükleotid problemlerin kullanılmasına dayalı bir yöntemdir. Bu yöntemin aracılığıyla elde edilen izolatlarla ait yeni varyasyonlar elde edilebilmektedir (Mabilat ve Courvalin, 1990).

Nükleik asit dizi analizi yöntemi ise; PCR sonrası elde edilen ürüne ait çıkarılan gen dizisinin, gen bankasında önceden kayıtlı bulunan diziler ile karşılaştırma yapılmasına olanak sağlar. Bu yöntem genin önceden belirlenmiş bir enzime mi ait olduğu yoksa yeni bir enzime mi olduğu belirlerken, genin mutasyona uğrayıp uğramadığını da saptanabilmektedir (Fluit, Visser ve Schmitz, 2001).

2.5. Tedavi

İYE tedavisinin amacı; hastada var olan semptomları ortadan kaldırmak, mevcut enfeksiyonu tedavi edip, renal hasarın oluşumunu engellemek, varsa anatomik bozuklukları belirleyip, tedavisini sağlamak ve enfeksiyonun tekrarlanmasını önlemektir. Bu nedenle doğru tedavi ve hastanın izlemi oldukça önemlidir (Roberts, 2011). İdrar yolu enfeksiyonlarının doğru tedavinin belirlenebilmesi için öncelikle etkenin doğru belirlenmesi gerekmektedir. İYE’ de hastanın yaşı ve hastalığın şiddeti tedavide belirleyici olacaktır (Erdoğan ve Öner, 2002).

Yeni doğanlar ve 3 aydan küçük olan çocukların takibi ve tedavisi mutlaka hastanede yapılmalıdır. Bakteri yoğunluğunun azaltılıp mesanenin hızlı boşaltılabilmesi için öncelikle hidrasyonun sağlanması gerekmektedir (Sobel ve Kaye, 2015). Ampirik tedavini devamında etkenin belirlenmesiyle birlikte etkenin duyarlı olduğu daha dar spektrumlu antibiyotik tedavisine geçilmelidir. Antibiyotik seçiminde son yıllarda artış gösteren antibiyotik direnci ve bu dirençte önemli bir paya sahip olan beta laktamaz direnci dikkate alınmalıdır. Hastanın klinik seyrine göre parenteral tedaviye 10-14 gün arası devam edilip, tedavinin bitiminden 2 gün sonra yapılacak idrar kültürü değerlendirme yapılmalıdır. Tedavinin başarı göstergesi bakteriürinin kaybolmasıdır (Noyan, 2004).

İYE tanısı alan yeni doğanların tedavisi mutlaka hastaneye yatırılarak ve damar yoluyla yapılmalı, kan ve beyin omirilik sıvısı (BOS) kültürleri alınarak sepsis ve

menenjit ekarte edilmelidir. Parenteral tedaviye klinik olarak hasta düzelene kadar (3-7 gün) devam edilmeli, ardından tedavi oral yolla 10-14 güne tamamlanmalıdır (Noyan, 2004).

Üç aydan büyük çocukların İYE tedavisinde ise asemptomatik seyreden çocuklarda oral tedaviye başlanır. İdrar kültürünün sonucuna ve klinik seyrine göre uygun antibiyotik seçilir. Mutlaka hidrasyonun sağlanması gerekmektedir (Noyan, 2004). Alt İYE tespit edilen çocuklarda tedaviye 7-10 gün arası devam edilmelidir. Klinik bulgularında kusma, oral alımda azalma ve hidrasyonun sağlanamaması durumunda hastaneye yatırılıp parenteral tedavi uygulanmalıdır (Elder, 2016).

Genel olarak ele alındığında tedavide etkenin türünün belirlenmesinin yanı sıra, türe ait filogenetik grupların, virülens ve direnç genlerinin de tespit edilmesi hem tedavi şansını artıracak hem de maliyeti düşürecektir (Gülay, 2001; Ejrnaes, 2011).

2.6. Korunma

Tekrarlayan İYE hipertansiyon, piyelonefrit ve kronik böbrek yetmezliğine neden olduğu bildirilmektedir. Çocukluk döneminde İYE’de korunmada; etkenin yayılımını azaltmak ve salgına dönüşmesine engel olmak öncelikli amacı oluşturmaktadır. (Bırol, 2003; Özer, 2006). İYE’yi önlemede öncelikli olarak ebeveynlere ve çocuklara çocuk ürogenital sistemi ile ilgili eğitim verilmesi gerektiği bilinmektedir. Eğitim konuları perine temizliğinin doğru yapılışı, çocukların altlarının pamuklu bez ya da suyla ıslatılmış pamukla temizlenmesi, çocuk için kullanılacak bez seçiminin, kullanılan çamaşırın özelliği, yıkanması ve kurutulması aşamaları hakkındaki konuları içermelidir. Ayrıca çocuklarda idrar yapmayı erteleme durumları açısından ebeveynlerin gözlem yapıp, düzenli aralıklarla mesane boşaltımı desteklenmeleri ve çocukların yaşı ve durumlarına göre gerekli sıvı alımı takip edilmesi gerektiği bildirilmektedir. Çocuklarda konstipasyon gelişiminin önlenmesi, küvet ve köpük banyolarında da kaçınılması gerektiği bilinmektedir (Görgeç, 2016).

Korunmada ikinci aşama ise İYE’de riskli grupların belirlenmesidir. Çocuklarda bulunan kronik kabızlık, işeme bozukluğu, üriner sistem obstrüksiyonları ile anomaliler, taş hikayesi, metabolik hastalıklar, diyabet ve veziüretal reflü gibi hastalıklar ve ailesel yatkınlığı olan çocuklar İYE risk teşkil ettiği bildirilmiştir. Risk

grubunda olan bu çocukların düzenli takibi ve tedavisi hastalığın gelişimini ve tekrarını azaltacağı ifade edilmektedir (Biol, 2003; Özer, 2006).

Bilinçsiz antibiyotik kullanılmasının engellenmesi de direnç gelişimine karşı koruma sağlayacağı bildirilmektedir. Etken identifikasyonunun zaman kaybetmeden yapılıp, direnç durumlarına göre uygun antibiyotiklerle tedavinin yapılması gerektiği ifade edilmektedir (Kola ve ark., 2007; Tacconelli ve ark., 2014; Woodford ve ark., 2004).

Ebeveynlerin çocukların bakımlarına ilişkin bilgilerinin gözden geçirilmesi, topluma el hijyeni ve mikroorganizmalardan korunmak için yapılması gerekenlere yönelik eğitimlerin verilmesi, temasın önlenmesi, hasta bireylerin izolasyonu, hasta takibinin yapılması ve çevre temizliğini içeren bilgilerin iletilmesi enfeksiyondan korunmada oldukça büyük öneme sahip olduğu unutulmamalıdır.

3. MATERYAL ve METOT

Çalışmanın evrenine ve örneklem grubuna ait bilgilere, çalışmanın yapılabilmesi için alınmış olan izinlere, örneklerin izolasyon, identifikasyon, antibiyotik duyarlılıkları ve moleküler yöntemlerle incelenmesine kadar geçen sürede kullanılan materyallere bu bölümde yer verilmiştir.

3.1. Materyal

Bu çalışma, Ocak 2020-Aralık 2020 tarihleri arasında Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezinin çeşitli kliniklerine idrar yolu enfeksiyonu şikayetiyle başvuran ve bu nedenle Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında inceleme amaçlı 0-18 yaş arası çocuklardan alınan 1077 idrar örneği ile gerçekleştirilmiştir. Bu tarihler arasında merkezde çalışılan toplam 1077 idrar örneğinin yapılan identifikasyon sununda GSBL pozitif *E. coli* olduğu tespit edilen 80 adet izolat çalışmaya dahil edilmiştir.

3.1.1. Çalışma İzinleri

Çalışmanın yapılabilmesi için kurum izni, Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Başhekimliği'nin 20.11.2019 tarihli oluru ile alınmıştır.

Çalışmaya ait Etik Kurul Kararı; Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 29.11.2019 tarihli 12 numaralı oturumunda alınmıştır.

3.1.2. Etken İzolasyonu ve İdentifikasyonu İçin Gerekli Materyal

Bu bölümde örneklerin izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi aşamasında kullanılacak besiyerleri ve çeşitli materyallere yer verilmiştir.

3.1.2.1. Etken İzolasyonu İçin Kullanılan Besiyeri

%5 Koyun Kanlı Agar / EMB Agar: %5 Koyun kanlı kgar, genel kullanım amaçlı bir besi yeri olup, oldukça besleyici bir içeriğe sahiptir. Elde edilen örneklerin

izolasyonu ve gelişimlerinin değerlendirilmesi amaçlı kullanıldığı gibi bakterilerin hemolizinin değerlendirilmesi amacıyla da kullanılır. EMB agar ise, elde edilen örneklerin enterik Gram negatif bakterilerin izole edilmesinde kullanılmaktadır (<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/petride-besiyeri/5-sheep-blood-agar-emb-agar/>) Çalışmada kullanılan bu iki besiyeri bölmeli petride hazır olarak temin edilmiş olup (RTA, Türkiye) etken izolasyonunda kullanılmıştır.

% 5 Koyun Kanlı Agar		EMB Agar	
İçerik	g/L	İçerik	g/L
Special peptone	23 g	Peptone	10 g
Starch	1 g	Lactose	10 g
Sodium chloride	5 g	Dipotassium hydrogen phosphate	2 g
Agar	10 g	Eosin Y	0.4 g
Defibrinated Sheep Blood	50 ml	Methylene blue	0,065 g
pH	7.4 ± 0.2	Agar	15 g
		pH	6.8 ± 0.2

3.1.2.2. Etken İdentifikasyonu İçin Kullanılan Materyal ve Besiyerleri

Gram Boyama Kiti: Gram boyama kiti, Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin mikroskopik olarak belirlenmesi işleminde kullanılır. (<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/boyama-setleri/gram-jensen-boyama-kiti-250-ml/>; Pons ve Pons, 2004). Çalışmada kullanılan bu boyama kiti ticari olarak temin edilmiş olup (RTA, Türkiye), bakterilerin Gram negatif ve Gram pozitif olarak identifikasyonu amacıyla kullanılmıştır.

Gram Boyama Kiti	
Fuksin çözeltilisi	1x250 ml
Lugol çözeltilisi	1x250 ml
Denatüre alkol çözeltilisi	1x250 ml
Kristal moru çözeltilisi	1x250 ml

Triple Sugar Iron (TSI) Agar: TSI agar, enterik gram negatif basillerde oluşan hidrojen sülfid üretim potansiyeli ile karbonhidrat fermentasyonunu belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tupte-sisede-besiyeri/triple-sugar-iron-agar-5-ml/>). Çalışmada kullanılan bu besiyeri hazır olarak temin edilmiş olup (RTA, Türkiye), identifikasyon amacıyla kullanılmıştır.

TSI Agar	
İçerik	g/ml
Beef Extract	3 g
Yeast Extract	3 g
Pancreatic Digest od Casein	15 g
Proteose Peptone No.3	5 g
Dextrose	1 g
Lactose	10 g
Sucrose	10 g
Ferrous Sulfate	0.2 g
Sodium Chloride	5 g
Sodium Thiosulfate	0.3 g
Agar	12 g
Phenol Red	0,024 g
pH	7.4 ± 0.2

Motility, Indole, Ornithine (MIO) Medium Besiyeri: Bu besiyeri, mikroorganizmanın hareketliliğini, indol üretme durumunu ve ornitin dekarboksilaz aktivasyonunu belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tupte-sisede-besiyeri/mio-medium->

5-ml/). Çalışmada kullanılan bu besiyeri hazır olarak temin edilmiş olup (RTA, Türkiye), identifikasyon amacıyla kullanılmıştır.

MIO Medium Besiyeri	
İçerik	g/ml
Enzymatic Digest of Gelatin	10 g
Enzymatic Digest of Casein	10 g
Yeast Extract	3 g
Dextrose	1 g
Bromcresol Purple	0.02 g
L-Ornithine	5 g
Agar	2 g
pH	6.5 ± 0.2

Simmons Citrate Agar: Bu besiyeri, Gram negatif bakterilerdeki sitrat kullanımını belirlemek amacıyla kullanılır (<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tupte-sisede-besiyeri/simmons-citrate-agar/>). Çalışmada kullanılan bu besiyeri hazır olarak temin edilmiş olup (RTA, Türkiye), identifikasyon amacıyla kullanılmıştır.

Simmons Citrate Agar	
İçerik	g/ml
Tryptone	20 g
Peptone	6.1 g
Ferrous ammonium sulphate	0.2 g
Sodium thiosulphate	0.2 g
Agar	3.5 g
pH	7.3 ± 0.2

Üre Agar: Üre agar, *Enterobacteriaceae* ailesinin üreaz enzimi üretme potansiyellerine göre ayırt etme amacıyla kullanılmaktadır (<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tupte-sisede-besiyeri/urea-agar-5-ml/>). Çalışmada kullanılan bu besiyeri hazır olarak temin edilmiş olup (RTA, Türkiye), identifikasyon amacıyla kullanılmıştır.

Üre Agar	
İçerik	g/ml
Peptone	1 g
Glucose	1 g
Sodium chloride	5 g
Disodium phosphate	1.2 g
Potassium dihydrogen phosphate	0.8 g
Phenol red	0.012 g
Urea	20 g
Agar	15 g
pH	6.8 ± 0.2

3.1.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri İçin Gerekli Materyaller

Mueller Hinton Broth: Mueller Hinton broth, sıvı besiyeri olup, birçok mikroorganizmanın üretimi için ve antibiyotiklerin MIC değerini belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Bakterinin katı besiyerine aktarılmadan önce Mc Farland şartlarına göre ayarlanması bu besiyerinde gerçekleşmektedir (<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tuptesisedebesiyeri/mueller-hinton-broth-5-ml/>). Çalışmada kullanılan bu besiyeri hazır olarak temin edilmiş olup (RTA, Türkiye) bakterilerin katı besiyerine aktarılması amacıyla kullanılmıştır.

Mueller Hinton Broth	
İçerik	g/ml
Acid Hydrolysate of Casein	17.5 g
Beef Extract	3 g
Starch	1.5 g
pH	7.4 ± 0.2

Mueller Hinton Agar: Mueller Hinton agar, mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla kullanılan bir besiyeridir (<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/petride-besiyeri/mueller-hinton-agar/>). Çalışmada kullanılan bu besiyeri hazır olarak temin edilmiş olup (RTA, Türkiye) bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıklarını belirleme amacıyla kullanılmıştır.

Mueller Hinton Agar	
İçerik	g/ml
Beef, dehydrated infusion from	2 g
Casein hydrolysate	17.5 g
Starch	1.5 g
Agar	17 g
pH	7.3 ± 0.2

Antibiyotik Duyarlılık Diskleri: Laboratuvarlarda antimikrobiyal duyarlılıkları belirlemek amacıyla standartlara uygun bir şekilde özel kağıtlara emdirilmiş in vitro olarak kullanılan disk şeklindeki malzemedir (<https://bioanalyse.com/bioanalyse-antimikrobiyal-duyarlilik-testi-diskleri/>). Bu çalışmada kullanılan diskler antibiyotik duyarlılıklarının ölçülmesi amacıyla kullanılmıştır (Bioanalyse, Türkiye).

Antimikrobiyal Ajan	Sembol	mcg	Antimikrobiyal Ajan	Sembol	mcg
Amikasin	AK	30	Sefuroksim aksetil	CXM	30
Amoksisilin-klavulanik asit	AMC	30	Siprofloksasin	CIP	5
Ampisilin	AM	2	Fosfomisin	FF	50
Sefazolin	CZ	30	Gentamisin	CN	10
Sefepim	FEP	30	Levofloksasin	LEV	5
Sefiksım	CFM	5	Nitrofurantoin	F	300
Seftazidim	CAZ	30	Tazobaktam piperasilin	TPZ	110
Seftriakson	CRO	30	Trimetoprim sulfametoksazol	SXT	25

3.1.4. Moleküler Analizlerde Kullanılan Materyaller

Moleküler Analiz İçin Gerekli Olan Araç ve Gereçler

- Otomatik Pipet Seti (Gilson) (10, 20, 100, 200, 1000 µl'lik)
- Termal cycler (Bio- Rad, MJ Mini Gradient Thermal Cyclers, PTC- 1148)
- Jel dokümantasyon sistemi (Vilber Lourmat V03 8464)
- Elektroforezis ünitesi (Bio- Rad, Mini- sub cell gt)
- Soğutmalı eppendorf santrifüjü (Eppendorf, Centrifuge- 5417R)
- Laminar flow kabin (Nüve, LN120)
- Derin dondurucu (Vestel)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Bileşenleri

- Taq DNA Polymeraz Seti (Vivantis, PL 1202)
- dNTP Miks (10 mM) (Sigma, D7295)
- Nuclease-Free Water (Thermo Fisher, AM9932)
- Minera Oil (Bioshop-Canada MIN444)
- Direnç Genleri Primerler (CTX-M, OXA-48, TEM SHV primerler çiftleri) (Sentegen)
- Filogenetik Analiz Primerleri (chuA, yjaA, TspE4C2 primerler çiftleri) (Sentegen)
- UPEC Virülens Gen Primerleri (pap, cnf-1, sfa, aer ve hly primer çiftleri) (Sentegen)

Elektroforez' de Kullanılan Solüsyonlar

- TBE Buffer (Tris-borate-EDTA -10X) (Thermo Fisher, B52)

- Agaroz (Thermo Fisher, 17850)
- DNA Ladder (Thermo Fisher GeneRuler 100 bp, SM0241)
- Etidyum bromid (Sigma, E1510- 10 ML)

3.1.5. İzolatların Saklanması İçin Gerekli Materyaller

Boncuklu Bakteri Saklama Tüpleri: Bakteri saklama tüpleri identifiye edilen izolatların daha sonra moleküler yöntemlerin uygulanması için mikroorganizmaları tutucu özellikte porlu yapıya sahip seramik boncuk ve kriyoprezervatif sıvı içeren stok tüplerdir. Tüpleri saklamak için buzdolaplarının buzluğu kullanılabileceği gibi, dondurma özelliği -80 °C sıcaklığı kadar inebilen derin dondurucular da kullanılabilir. Çalışmada kullanılan bu tüpleri ticari olarak temin edilmiş olup (OR-BAK, Türkiye), bakterileri stoklama amacıyla kullanılmıştır.

3.2. Metot

Çalışmanın başlangıcından sonuna kadar geçen süreçte uygulanan tüm yöntemler bu bölümde yer almaktadır.

3.2.1. Örneklem Yöntemi ve İdrar Örneklerinin Alınması

Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'nin çeşitli kliniklerinden, 100 ml'lik steril idrar numune kabına alınan idrar örnekleri, izolasyon ve identifikasyon için Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na yönlendirildi.

3.2.2. Etken İzolasyon Yöntemi

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen idrar örnekleri 10 dk 3000 rpm'de santrifüj edildikten sonra, dipte oluşan tortudan 10µl' lik öze ile alınarak %5 koyun kanlı/EMB agara (bölmeli) ekim yapıldı. Aerobik olarak 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. İdrar örneklerinden üreme olanlar çalışmaya dahil edildi. İzolatları kanlı agarda büyük, gri, düzgün koloniler oluşturanların *E. coli* şüpheli olarak değerlendirildi. İdrar izolatlarının çoğu hemoliz yapmaz iken, bazılarının kanlı agarda kuvvetli hemoliz yaptığı görüldü. EMB agarda laktoz fermentasyonu nedeniyle

metalik refle oluşturan yeşil-siyah renkli koloniler yine *E. coli* şüpheli olarak değerlendirildi (Edberg ve Trepeta, 1983; Isenberg, 1998).

3.2.3. Etken İdentifikasyon Yöntemi

Gram Boyama Yöntemi: İdentifikasyon için, steril bir lamın orta noktasına bir damla saf su konulduktan sonra besiyerlerinde üreyen kolonilerden bir öze dolusu alınarak dairesel hareketlerle karıştırıldı. Lamın üzerine ince bir tabaka olarak yayıldıktan sonra oda ısısında kurumaya bırakıldı. Kurutulan preparat fiksasyon için lamın ucundan özel pens yardımıyla tutulup alevden 3-4 kez geçirilerek boyamaya hazır hale getirildi. Mikroskopik inceleme sonucunda mor renkte görüntülenen mikroorganizmalar Gram (+), pembe-kırmızı renkte görüntülenenler ise Gram (-) olarak değerlendirildi (Arda, 2011).

Triple Sugar Iron (TSI) Agar Testi: Katı besiyerinde üremiş olan kolonilerden bir öze dolusu alınarak, içeriğinde glikoz, laktoz ve sukroz bulunan yatık TSI agara ekildi. Etüvde, 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra tüpte oluşan değişimler değerlendirildi. Tüpün dip kısmında sarıya doğru dönen renk değişimi glikoz kullanımını, yatık kısımda sarıya doğru dönen renk değişimi laktozun kullanımını, yatık kısmın ucundaki sarıya doğru dönen renk değişimi sukroz kullanımını gösterir. Tüpün uç kısmında oluşan siyah çökelti, hidrojen sülfid üretiminin olduğunu göstermektedir. Besiyerinin bölünüp yırtılması gaz üretiminin olduğunu göstermektedir. *Escherichia coli* H₂S oluşturmaz (Forbes, Sahm ve Weissfeld, 2002; Murray ve ark., 2003; Holt ve ark., 1994).

Motility, Indole, Ornithine (MIO) Medium Testi: Mikroorganizmaların hareket, indol ve ornitin dekarboksilaz üretiminin belirlenmesi için hazırlanmış besiyeri, bakteri ekiminden önce kapakları gevşetilmiş olarak kaynatılıp oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Bakteri kolonisinden iğne öze yardımıyla alınarak tüpün içindeki besiyerinin en dibine 0,6 cm'lik tek bir delme hareketiyle inoküle edildi. Tüm tüpler kapakları gevşek olarak 37 °C'de aerobik atmosferde 24 saat inkübe edildi. Tüpler hareket ve renk yönünden gözlemlendi. Tüpte oluşan bulanıklık hareketin (motilite) pozitif olduğunu göstermektedir. Besiyerinde koyu, bulanık mor renk Ornitin pozitif, sarı renk Ornitin negatif olarak değerlendirildi. Sonrasında, tüpün kenar kısmından yavaşça akıtılarak, 0.5 ml Kovaks ayırıcı ilave edildi. Oluşan indol

aldehitlerle (ayıraçtaki) reaksiyona girince kırmızı renk verir. Besiyerinin en üst bölümünde oluşan parlak kırmızı bir halka testin pozitif olduğunu göstermektedir. *E. coli* hareket, ornitin ve indol pozitifdir. (Ederer ve Clark, 1970; Oberhofer ve Hajkowski,1970; Dolapçı, 2016).

Sitrat Testi: Test edilecek bakteriye ait koloniden iğne öze yardımıyla alınarak Simon's Sitrat Yatık Agar besiyerine ekim yapıldıktan sonra, etüvde, 37°C'de 2 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası, indikatör olarak kullanılan %0,2'lik Bromo timol mavisi aracılığıyla besiyerinin yeşil olan orijinal rengindeki değişik değerlendirildi. Renginin maviye dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi. *Escherichia coli*'de sitrat negatiftir (<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22364>).

Üreaz Testi: Mikroorganizma kültürlerinden, tüpteki üreli agarın yüzey kısmına ekim yapıldı. Etüvde, 37°C'de 2 gün inkübe edildikten sonra renk değerlendirmesi yapıldı. Tüpte kırmızı rengin meydana gelmesi pozitif reaksiyon olarak, renk değişikliğinin olmaması ise negatif reaksiyon olarak değerlendirildi. *Escherichia coli* üreaz negatif bakteridir (<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22917>).

3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Yapılan identifikasyon sonucu *Escherichia coli* olarak belirlenen izolatların, antibiyotik duyarlılıkları ve direnç durumlarını belirlemek için çeşitli testler yapılmıştır.

Disk Difüzyon Testi: Çalışmada kullanılacak mikroorganizma Mueller-Hinton brothda 2 saat süreyle 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Oluşan bulanıklıktan sonra McFarland 0.5 (10^8 mikroorganizma/ml)'e göre ayarlanıp standart bulanıklık oluşturuldu. Hazırlanan süspansiyondan steril eküvyon çubuğu yardımıyla alınarak Mueller-Hinton agar yüzeyine ekim yapıldı. Ekim sonrası farklı antibiyotiklere ait diskler steril edilmiş pens yardımıyla besiyerinin yüzeyine yerleştirildi. Yerleştirme işlemi, oluşacak zonların karıştırılmaması için diskler arasında 22 mm, petri kenarlarıyla olan mesafenin ise 14 mm uzaklık olmasına dikkat edildi. Besiyerleri etüvde 37°C'de 18 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Daha sonra oluşan inhibisyon zon çapları ölçüldü (Patel ve ark., 2014).

Çift Disk Sinerji Testi: İzolatların GSBL direnç durumunun saptanması için, disk difüzyon yönteminde uygulandığı gibi Mueller-Hinton agar besiyerine ekim yapıldı. Amoxicillin-Clavulonic acid (30) merkeze konularak etrafına 25 mm uzaklıklarda olacak şekilde Seftazidim (30), Sefepim (30) ve Seftriakson (30) diskleri yerleştirilerek etüvde 37°C’de olacak şekilde 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Seftazidim, Sefepim ve Seftriakson disklerinin oluşturduğu inhibisyon zonunun, Amoxicillin-Clavulonic acid diskine doğru genişlemesi GSBL varlığı olarak değerlendirildi. (Öztürk ve ark., 2010). Bu test GSBL varlığının ortaya konulması amacıyla yapılmıştır.

3.2.5. *E. coli* İzolatlarıyla Gerçekleştirilen Moleküler Analizler

Bu çalışmada identifiye edilen *E. coli*’ye ait izolatların bazı GSBL direnç genlerinin analizleri, filogenetik gruplandırması ve UPEC bazı virülens genlerinin analizleri PCR temelli moleküler tekniklerle belirlendi. *E. coli*’ye ait DNA elde edilmesi için katı besiyerine ekilen saflaştırılmış kolonilerden sağlandı. Elde edilen nükleik asitler çalışma boyunca tüm analizlerde kullanıldı.

3.2.5.1. DNA (Nükleik Asit) Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için, 0,2 ml’ lik PCR tüplerine 100 µl aktarılan Nükleaz suyun içerisine %5 koyun kanlı agarda inkübasyona bırakılan bakterilerden 0.1 µl’ lik plastik öze yardımıyla 1-2 koloni alınarak hemojenize edildi. Daha sonra gradient ısı makinesine yerleştirilen tüpler, 99,9 °C’ de 10 dk olarak ayarlanan programda çalıştırıldı. Program sonrası 8000 devirde (rpm) 3 dk. santrifüj edilen tüplerin supernatant kısmında 95 µl toplanarak kalıp DNA elde edildi (Newton, 1995). Elde edilen kalıp DNA’lar PCR işlemlerinde kullanılmak üzere -20°C’de derin dondurucuya kaldırıldı.

3.2.5.2. GSBL Direnç Genlerinin Analizleri

TEM-PCR Yöntemi: İzole edilen *E. coli* izolatlarının TEM direnç genlerinin belirlenmesi için referans primerler kullanılmıştır.

Hedef Gen	Primer	Bant Boyu (bp)	Referans
<i>bla</i> _{TEM}	F-5'-ATGAGTATTCAACATTTCCGTG-3'	861	Hoşoglu ve ark., 2007)
	R-5'-TTACCAATGCTTAATCAGTGAG-3'		

Amplikasyon için kullanılan reaktif karışımı;

Reaktif	Stok Konsantrasyonu	1 örnek için miktar (µl)
Buffer	10 x	5
dNTP karışımı	10 mM	0,75
MgCl ₂	25 mM	5
Primer F	10 µM	1,5
Primer R	10 µM	1,5
Taq DNA Polimeraz	5 U/µl	0,75
Nükleaz su		5,5
Kalıp DNA		5
Toplam		25

Amplifikasyon koşulları;

Aktivasyon	94 °C	5 dakika	1 siklus
Denatürasyon	94 °C	1 dakika	35 siklus
Bağlanma	55 °C	1 dakika	
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son uzama	72 °C	10 dakika	1 siklus
Soğutma	4 °C	10 dakika	1 siklus

CTX-M-PCR Yöntemi: İzole edilen *E. coli* izolatlarının CTX-M direnç genlerinin belirlenmesi için referans primerler kullanılmıştır.

Hedef Gen	Primer	Bant Boyu (bp)	Referans
<i>bla</i> _{CTX-M}	F-5'-TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA-3'	544	Edelstein ve ark., 2003)
	R- 5'-CGATATCGTTGGTGGTGCCATA-3'		

Amplifikasyon için kullanılan reaktif karışımı;

Reaktif	Stok Konsantrasyonu	1 örnek için miktar (µl)
Buffer	10 x	5
dNTP karışımı	10 mM	0,75
MgCl ₂	25 mM	3
Primer F	10 µM	1
Primer R	10 µM	1
Taq DNA Polimeraz	5 U/µl	0,5
Nükleaz su		10,75
Kalıp DNA		3
Toplam		25

Amplifikasyon koşulları;

Aktivasyon	94 °C	5 dakika	1 siklus
Denatürasyon	94 °C	1dakika	35 siklus
Bağlanma	57 °C	1dakika	
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son uzama	72 °C	10 dakika	1 siklus
Soğutma	4 °C	10 dakika	1 siklus

SHV-PCR Yöntemi: İzole edilen *E. coli* izolatlarının SHV direnç genlerinin belirlenmesi için referans primerler kullanılmıştır.

Hedef Gen	Primer	Bant Boyu (bp)	Referans
<i>bla_{SHV}</i>	F-5'-TTATCTCCCTGTTAGCCACC-3'	795	Arlet ve ark. (1997)
	R-5-GATTTGCTGATTCGCTCGG-3'		

Amplifikasyon için kullanılan reaktif karışımı;

Reaktif	Stok Konsantrasyonu	1 örnek için miktar (µl)
Buffer	10 x	5
dNTP karışımı	10 mM	0,75
MgCl ₂	25 mM	4
Primer F	10 µM	1,5
Primer R	10 µM	1,5
Taq DNA Polimeraz	5 U/µl	0,5
Nükleaz su		6,75
Kalıp DNA		5
Toplam		25

Amplifikasyon koşulları;

Aktivasyon	94 °C	5 dakika	1 siklus
Denatürasyon	94 °C	1dakika	35 siklus
Bağlanma	59 °C	1dakika	
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son uzama	72 °C	10 dakika	1 siklus
Soğutma	4 °C	10 dakika	1 siklus

OXA-2 PCR Yöntemi: İzole edilen *E. coli* izolatlarının OXA-2 direnç genlerinin belirlenmesi için referans primerler kullanılmıştır.

Hedef Gen	Primer	Bant Boyu (bp)	Referans
<i>bla</i> _{OXA-2}	5'-AAG AAA CGC TAC TCG CCT GC-3'	478	Kiratisin ve ark., 2008
	5'-CCA CTC AAC CCA TCC TAC CC-3'		

Amplifikasyon için kullanılan reaktif karışımı;

Reaktif	Stok Konsantrasyonu	1 örnek için miktar (µl)
Buffer	10 x	5
dNTP karışımı	10 mM	0,75
MgCl ₂	25 mM	3
Primer F	10 µM	1
Primer R	10 µM	1
Taq DNA Polimeraz	5 U/µl	0,4
Nükleaz su		9,85
Kalıp DNA		4
Toplam		25

Amplifikasyon koşulları;

Aktivasyon	95 °C	10 dakika	1 siklus
Denatürasyon	95 °C	1dakika	35 siklus
Bağlanma	60,8 °C	1dakika	
Uzama	72 °C	1,5 dakika	
Son uzama	72 °C	3 dakika	1 siklus
Soğutma	4 °C	10 dakika	1 siklus

3.2.5.3. UPEC Virülens Genlerinin Belirlenmesi Multipleks PCR Yöntemi

İzole edilen *E. coli* izolatlarının UPEC'ye ait bazı virülens genlerinin belirlenmesi için *pap*, *sfa*, *cnf-1*, *aer* ve *hly*'ye ait referans primerler kullanılmıştır. Multipleks PCR yapılmıştır.

Hedef Gen	Primer	Bant Boyu (bp)	Referans
<i>pap</i>	F- 5'-GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG-3'	328	Yamamoto ve ark., (1995)
	R- 5'-ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA-3'		
<i>sfa</i>	F- 5'-CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC-3'	410	
	R- 5'-CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA-3'		
<i>cnf-1</i>	F- 5'-AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG-3'	498	
	R- 5'-CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT-3'		
<i>aer</i>	F- 5'-TACCGGATTGTCATATGCAGACCGT-3'	602	
	R- 5'-AATATCTTCCTCCAGTCCGGAGAAG-3'		
<i>hly</i>	F- 5'-AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT-3'	1177	
	R- 5'-ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA-3'		

Amplifikasyon için kullanılan reaktif karışımı;

Reaktif	Stok Konsantrasyonu	1 örnek için miktar (µl)
Buffer	10 x	4
dNTP karışımı	10 mM	2,5
MgCl ₂	25 mM	3
<i>pap</i> Primer karışımı	10 µM	2
<i>sfa</i> Primer karışımı	10 µM	2
<i>cnf-1</i> Primer karışımı	10 µM	2
<i>aer</i> Primer karışımı	10 µM	2
<i>hly</i> Primer karışımı	10 µM	3
Taq DNA Polimeraz	5 U/µl	0,5
Kalıp DNA		4
Toplam		25

Amplifikasyon koşulları;

Aktivasyon	95 °C	3 dakika	1 siklus
Denatürasyon	95 °C	1dakika	37 siklus
Bağlanma	62,7 °C	1dakika	
Uzama	72 °C	2 dakika	
Son uzama	72 °C	7 dakika	1 siklus
Soğutma	4 °C	10 dakika	1 siklus

3.2.5.4. Filogenetik Gruplandırma Multipleks PCR Yöntemi

İzole edilen *E. coli* izolatlarının Filogenetik Gruplandırması için *chuA*, *yjaA* ve TSPE4.C2'ye ait referans primerler kullanılmıştır. Multipleks PCR yapılmıştır.

Hedef Gen	Primerler	Bant Boyu (bp)	Referans
<i>chuA</i>	F- 5'-ATGATCATCGCGGCGTGCTG-3'	281	Yun ve ark., (2015)
	R- 5'-AAACGCGCTCGCGCCTAAT-3'		
<i>yjaA</i>	F- 5'-TGTTGCGGATCTTGAAAGCAAACGT-3'	216	
	R- 5'-ACCTGTGACAAACCGCCCTCA-3'		
TSPE4.C2	F- 5'- GCGGGTGAGACAGAAACGCG-3'	152	
	R- 5'-TTGTCGTGAGTTGCGAACCCG-3'		

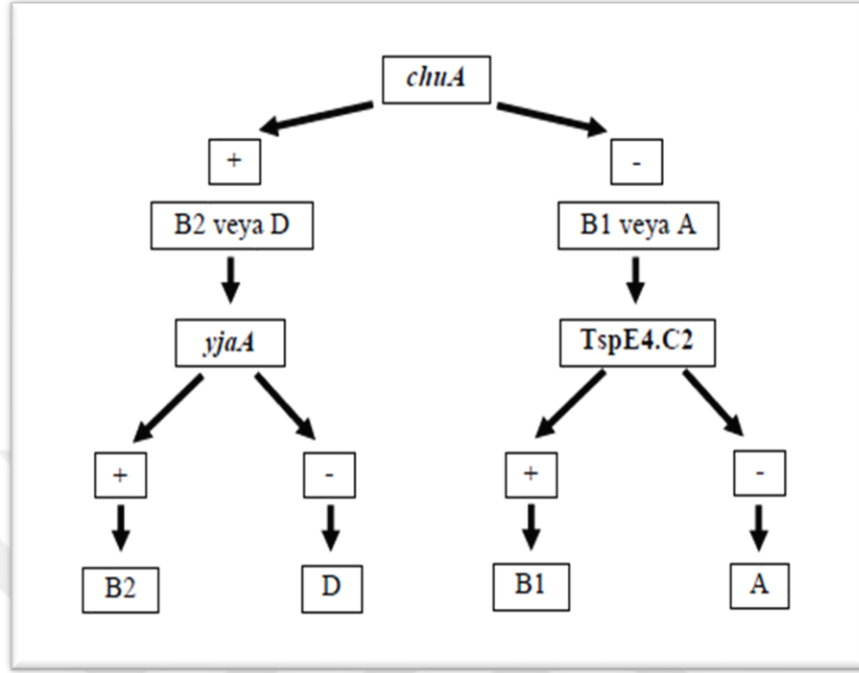
Amplifikasyon için kullanılan reaktif karışımı;

Reaktif	Stok Konsantrasyonu	1 örnek için miktar (µl)
Buffer	10 x	4
dNTP karışımı	10 mM	2
MgCl ₂	25 mM	3
<i>chuA</i> Primer karışımı	10 µM	1,5
<i>yjaA</i> Primer karışımı	10 µM	1,5
TspE4.C2 Primer karışımı	10 µM	1,5
Taq DNA Polimeraz	5 U/µl	0,4
Nükleaz su		7,1
Kalıp DNA		4
Toplam		25

Amplifikasyon koşulları;

Aktivasyon	95 °C	5 dakika	1 siklus
Denatürasyon	95 °C	1dakika	35 siklus
Bağlanma	58 °C	1dakika	
Uzama	72 °C	2 dakika	
Son uzama	72 °C	10 dakika	1 siklus
Soğutma	4 °C	10 dakika	1 siklus

İzolatlara ait filogenetik gruplandırma için Dikotomöz Karar Ağacı'dan faydalanılmıştır (Şekil 2) (Clermont ve ark., 2000)



Şekil 2. Dikotomöz Karar Ağacı

3.2.5.5. Elektroforez Yöntemi

Amplifiye olmuş ürünlerin görüntülenip analizinin yapılması amacıyla agaroz jel elektroforezi tekniğinde yararlanılmıştır. 60 ml 1xTBE buffer içerisine 0,9 mg agaroz ilave edilip mikrodalgada kaynatılarak agarozun tam erimesi sağlanır. Bir miktar soğutulan karışımın içerisine 2,2 µl etidyum bromür ilave edilerek taraklar yerleştirilip 30 dk soğumaya bırakılır. Katılan jel kuyucuklarına 9 µl PCR ürünü konularak 1xTBE buffer içeren elektroforez tankı içerisinde 100 volt ve 400 miliamperde 35 dakika yürütüldü (Moziogolu, 2019). Oluşan bantlar 100 bp plus DNA Ladder karşılaştırıldı. DNA fragmentleri jel dokümantasyon sistemi aracılığıyla görüntülenip fotoğraflandırdı. Kullanılan primer çiftlerine ait bant boyutlarının tespit edilmesi PCR ürünlerinde aradığımız genlerin varlığı olarak yorumlandı.

Çalışmada yapılan moleküler analizlerde *E. coli* kontrol suşu olarak, ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

3.2.5.6. Veri Analiz Yöntemi

Araştırmada elde edilen verilerin tamamı belirli bir kategoriye içeren sınıflandırma esasına dayalıdır. Kategorik verilerde bir değişkenin kategorileri arasında nominal verilerin (frekans türü) analiz edilmesi için non-parametrik testler kullanılmaktadır (Büyüköztürk, 2004).

Bu çalışmada kategorik bir düzenleme yapılmış olup (bu çalışma için; kızlar **a** sayıda, erkekler **b** sayıda veya 0-2 yaş aralığında **c** kişi, 3-7 yaş aralığında **d** kişi gibi...) bu kategoride yer alan kişi ya da nesnelerin aralarında anlamlı bir farklılık olup, olmadığını test etmek için χ^2 uygunluk testi kullanılmıştır. Burada bulunan değerlerin beklenen değerlerden farklılığına göre hesaplama yapılmıştır.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezinin farklı polikliniklerine idrar yolu yakınması ile gelen 1077 hastanın idrar örnekleri incelenmiştir. Alınan bu örneklerin kültüre edilmesi sonucunda, toplam 529 idrar örneğinde bakteri üremesinin olmadığı saptandı. Diğer yandan 198 örnekte ise kontaminasyon olduğu belirlenmiştir. Bu iki grupta yer alan 727 idrar örneği çalışmadan çıkartılmıştır. Geriye kalan 350 adet idrar örneği üzerinde bakteriyel etken izolasyonu yapıldı. Çalışmada 350 idrar örneğinden izole edilen toplam 237 *E. coli* izolatu alınmış ve Çift Disk Sinerji Yöntemine göre Genişlemiş Beta Laktamaz varlığı tespit edilmiştir. Elde edilen veriler, 80 adet örnekte (%33,8) GSBL varlığını ortaya koymuştur. Çalışmanın bundan sonraki bölümündeki tüm tanımlama, analiz ve hesaplama işlemleri 80 adet GSBL pozitif *E. coli* ile gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular 5 farklı başlık altında toplanmıştır. Bunlardan ilki araştırmanın genel verilerini ve demografik verileri içeren bulgulardır. İkinci aşamada ise antibiyogram incelemeleri ve direnç genlerinin tespit edilmesine yönelik bulgular yer almaktadır. Üçüncü kısımda idrar örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının virülens genlerinin tespitini içeren veriler yer almaktadır. Dördüncü bölümde izolatların filogenetik tiplendirmesine ilişkin veriler sunulmuştur. Çalışmanın cinsiyet ve yaş aralığı değişkenine bağlı olan verileri ise istatistiksel çalışmalar, son başlıkta verilmiştir.

4. 1. Araştırmanın Genel ve Demografik Verilerine İlişkin Bulgular

Bu başlık altında çalışılan 350 idrar örneğinin, içerdiği bakteri türlerine göre sayısal değerleri ve yüzde oranları verilmiştir. Yapılan tanımlama işlemlerinde sonra 10 farklı türe ilişkin sıralama Tablo 3’de sunulmuştur.

Tablo 3. Çalışmada izole edilen bakteri türlerine ilişkin veriler

Bakteri Türü	Örnek Sayısı	Yüzde(%)
<i>Escherichia coli</i>	237	%67,7
Koagülaz (-) <i>Stafilokok</i>	36	%10,3
<i>Proteus mirabilis</i>	25	%7,1
<i>Enterococcus</i> spp.	22	%6,3
<i>Klebsiella</i> spp.	11	%3,1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	%1,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	%1,7
<i>Citrobacter diversus</i>	3	%0,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	%0,6
<i>Proteus vulgaris</i>	2	%0,6
Toplam	350	%100

Çalışmada en fazla izole edilen bakteri %67,7'lik oranla *E. coli* olmuştur. Bunu takiben %10,3'lük oranla Koagülaz (-) *Stafilokok* ikinci sırayı almıştır. *Proteus mirabilis* (%7,1), *Enterococcus* spp. (%6,3) birbirlerine yakın değerlerde izole edilerek sıralamaya dahil olmuştur. *Klebsiella* spp. %3,1'lik oranda izole edilirken, *Enterobacter aerogenes* ve *Staphylococcus aureus*'un izole edilme sıklığı %1,7 olarak bulunmuştur. *Citrobacter diversus* %0,9 değerinde izole edilirken, son sırayı %0,6'lık oranla *Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus vulgaris* tanımlanmıştır.

Yapılan çalışmalarda cinsiyetin İYE'de önemli bir faktör olduğu bildirilmektedir. Özellikle kız çocuklarında erkek çocuklarına oranla daha sık rastlanan bir sağlık problemidir. (Wettergren, Jodal ve Jonasson, 1985; Wettergren ve ark., 1990). Bu öneminden ötürü çalışmada cinsiyet değişkeni özellikle incelenmiştir.

Bu çalışma örneğinde, erkek ve kız çocuklarının idrar yolu enfeksiyonlarına yakalanma sıklığı Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. İdrar örneklerinde GSBL pozitif *E. coli* rastlanan kız/erkek çocuklarına ait istatistiksel veriler

Cinsiyet	İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
Erkek	19	23,8	22,050	,001
Kız	61	76,2		

Araştırma kapsamında idrar örneklerinden *E. coli* izole edilen erkek çocuklarının oranı %23,8 olurken, kız çocuklarda bu oran %76,2'lik bir değer olarak elde edilmiştir. Yapılan χ^2 uygunluk testi sonrasında *E. coli*'ye bağlı idrar yolu enfeksiyonlarında kız çocukları ile erkek çocukları arasında frekans değerleri bakımından anlamlı bir fark elde edilmiştir ($\chi^2_{(1)}=22,050$; $p<0,05$).

Diğer bir demografik değişken olarak yaş aralığı seçilmiştir. Çocukların yaş aralıklarının belirlenmesinde gelişim aşamalarına yönelik tasnif yapılmıştır. Bu tasnife göre 0-2 yaş aralığındaki çocukların duyuşsal edimsel dönemde olduğu, 3-7 yaş aralığındaki çocukların işlem öncesi dönemde olduğu, 8-11 yaş aralığındaki çocukların somut işlem döneminde olduğu ve 12 yaş üstü çocukların soyut işlem döneminde olduğu şeklinde sınıflandırma yapılmıştır. Çalışmada kullanılan yaş aralıkları da bu gelişim dönemleri dikkate alınarak yapılmıştır (Senemoğlu, 2018).

Bu değişkenin seçilmesindeki amaç, yaş aralıkları ile idrar yolu enfeksiyonlarına yakalanma sıklığı arasında bir ilişkinin olup olmadığının tespit edilmesidir. Bu düşünceden hareketle yaşa aralıklarına göre tasnif işlemleri yapılmış ve veriler Tablo 5'te sunulmuştur.

Tablo 5. İdrar örneklerinden izole edilen GSBL pozitif *E. coli* sayısının yaş aralığına göre dağılımı

Yaş aralığı	İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
0-2 yaş	38	47,5	25,900	,001
3-7 yaş	21	26,2		
8-11 yaş	13	16,3		
12 ve üstü	8	10		

İdrar örnekleri alınan çocuklardan elde edilen *E. coli* izolatlarının %47,5'lik oran 0-2 yaş grubu aralığında iken, %26,2'lik oranın 3-7 yaş aralığında olduğu belirlenmiştir. 8-11 Yaş aralığındaki çocukların oranı %16,3 ile düşüş gösterirken, en düşük oran ise %10 ile 12 yaş üstü çocuklardan elde edilmiştir. Çalışmanın istatistiksel

olarak değerlendirilmesinde ise yaş grupları ile *E. coli* rastlanma sıklığı arasında anlamlı bir farklılığın olduğu belirlenmiştir ($\chi^2_{(3)}=25,900$; $p<0,05$).

Diğer inceleme alanlarından birisi de gelen çocuk idrarlarının hangi aylarda geldiği ve aylara göre gelen idrar örneklerinin *E. coli* izolasyonunda farklılık oluşturup oluşturmadığıdır. Bu sebeple bir yıllık periyot belirlenmiş ve 2020 yılı için aylara göre gelen GSBL pozitif örneklere ilişkin veriler Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. İdrar örneklerinden GSBL pozitif *E. coli* izolasyonlarının aylara göre dağılımı

Ay	İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
Ocak-2020	21	26,3	67,125	,001
Şubat-2020	18	22,5		
Mart-2020	8	10,0		
Nisan-2020	1	1,3		
Mayıs-2020	1	1,3		
Haziran-2020	1	1,3		
Temmuz-2020	2	2,5		
Ağustos-2020	0	0		
Eylül-2020	5	6,3		
Ekim-2020	10	12,5		
Kasım-2020	3	3,8		
Aralık-2020	10	12,5		

E. coli izolatlarına ait sınıflandırmalardan birisi de numunenin alındığı ay olarak belirlenmiştir. En yüksek *E. coli* izolasyonunun yapıldığı ay %26,2 oranla Ocak-2020 olmuştur. Şubat-2020’de %22,5’lik oranda *E. coli* içeren idrar örneğine rastlanmıştır. Ekim ve Aralık-2020 itibarıyla %12,5’lik izolasyon oranı elde edilirken, diğer aylarda izolasyon oranları %10’un altında kalmıştır. Aylara göre istatistiksel değerlendirme yapıldığında ise, gelen numunelerin aylara dağılımı arasında yapılan χ^2 uygunluk testinde anlamlı fark elde edilmiştir ($\chi^2_{(10)}=67,125$; $p<0,05$). Bunun nedeni tüm dünyayı etkisi altına alan Covid-19 pandemi durumunun ülkemizde de ortaya çıkması olarak değerlendirilebilir. Çünkü ülkemizde ilk vakanın ortaya çıkışı Mart 2020 olarak bildirilmiştir. Mart 2020’den itibaren izolasyon sayısındaki düşüş bu durumu açıklamaktadır. Hastanelerin pandemi hastanesi olarak hizmet vermesi ve acil olmayan durumlarda poliklinik hizmeti verilmemesinin bu düşüşe zemin hazırladığı düşünülmektedir.

Çocuklarda rastlanan ve yüksek oranda seyreden *E. coli*'ye bağlı idrar yolu enfeksiyonlarında elde genel verilerden birisi de idrar örneklerinin geldiği kliniklerin çeşitliliğidir. Toplanan GSBL pozitif 80 adet izolatın geldiği polikliniklere ilişkin veriler Tablo 7'de sunulmuştur.

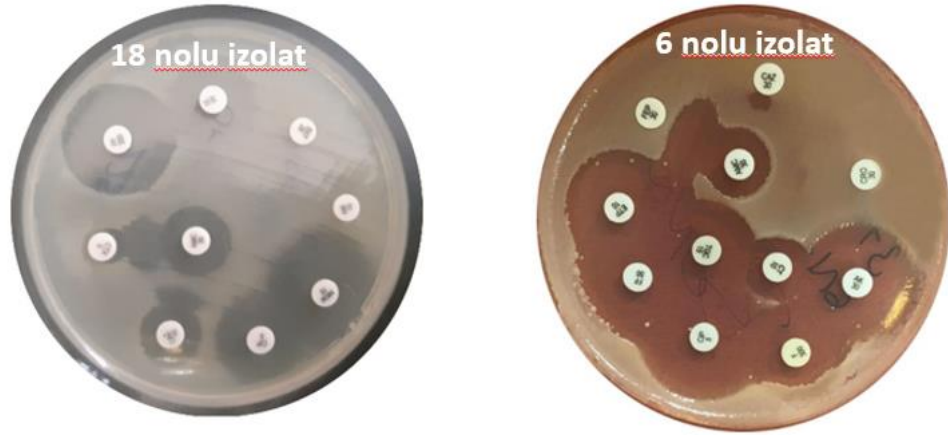
Tablo 7. İdrar örneklerinin alındığı kliniklere göre GSBL pozitif *E. coli* izolasyon oranları

Klinik	İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
Çocuk kliniği	71	88,8	110,725	,001
Üroloji kliniği	6	7,5		
Diğer klinik	3	3,8		

E. coli izolatlarının alındığı polikliniklere bakıldığında, en fazla izolatın geldiği birim %88,8 ile çocuk hastalıkları polikliniği olduğu görülmüştür. Daha sonra %7,5 ile üroloji polikliniği sıralamaya girerken, diğer polikliniklerden gelen hasta oranı %3,7 olmuştur. İstatistik hesaplamalar sonucunda izolatların alındığı polikliniklerin çocuk hasta sayıları arasında anlamlı bir farklılığın olduğu görülmüştür ($\chi^2_{(2)} = 110,725$; $p < 0,05$).

4. 2. Araştırmanın Antibiyotik Duyarlılıkları ve Direnç Genlerinin Varlığına İlişkin Bulgular

Çalışmada antibiyotik duyarlılığı işlemleri için Disk Diffüzyon Yöntemi kullanılarak antibiyogram testi gerçekleştirilmiştir. *E. coli* izolatlarının Disk Diffüzyon testi ve GSBL varlığı Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST) ile aynı petride değerlendirilmiştir. Bu ortamda hem antibiyotik duyarlılıkları hem de GSBL varlığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada 6 ve 18 nolu izolatların antibiyotik duyarlılık-Çift Disk Sinerji Testine ait örnek resimleri Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3. Yapılan Çift Disk Sinerji Testi ve Antibiyogram Duyarlılık Testi Örnek Görüntüleri

Çalışmada antibiyotik çeşitliliği oldukça geniş olarak seçilmiştir. Antibiyogram testinde toplam 16 antibiyotik kullanılmış, GSBL pozitif *E. coli* izolatlarına karşı gelişen direnç ve duyarlılık oranlarına ilişkin veriler Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. İdrar örneklerinden izole edilen GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç ve duyarlılık değerleri

Antibiyotik	Dirençli		Duyarlı		χ^2	p
	İzolat Sayısı	Yüzde	İzolat Sayısı	Yüzde		
Ampisilin	63	78,8	17	21,3	26,450	,001
Sefazolin	49	61,3	31	38,8	4,050	,044
Sefiksim	49	61,3	31	38,8	4,050	,044
Seftazidim	49	61,3	31	38,8	4,050	,044
Sefuroksim aksetil	49	61,3	31	38,8	4,050	,044
Seftriakson	48	60,0	32	40,0	3,200	,074
Sefepim	46	57,5	34	42,5	4,050	,044
Amoksisilin-Klavulanik asit	30	37,5	50	62,5	5,000	,025
Trimetoprim-sulfametoksazole	28	35,0	52	65,0	7,200	,007
Siprofloksasin	10	12,5	70	87,5	45,000	,001
Levofloksasin	9	11,3	71	88,8	48,050	,001
Gentamisin	7	8,8	73	91,3	54,450	,001
Tazobaktam piperasillin	3	3,8	77	96,3	*	*
Amikasin	2	2,5	78	97,5	*	*
Nitrofurantoin	2	2,5	78	97,5	*	*
Fosfomisin	0	0,0	80	100	*	*

* İzolatların %50’sinin sayısal değeri 5’ten küçük olduğu için χ^2 testi yapılması uygun değildir.

Yapılan antibiyogram incelemelerinde 16 farklı antibiyotiğe ilişkin veriler elde edilmiştir. Bu çalışmada en fazla direnç gösterilen antibiyotikler %78,8 ile Ampisilin ve %61,3 ile Sefazolin, Sefiksim, Seftazidim ve Sefuroksim aksetil disklerine olmuştur. Bunu %60 ile Seftriakson ve %57,5 ile Sefepim takip etmiştir. Amoksisilin-Klavulanik asit ve Trimetoprim-sulfametoksazole ise %30'un üzerinde direnç belirlenmiştir. Diğer antibiyotiklerde dirençle karşılaşma oranı çok daha düşük seyretmiştir. Duyarlılık durumları irdelendiğinde en yüksek duyarlılığın %100 ile Fosfomisin olduğu görülmektedir. Sonrasında sırasıyla %97,5 ile Amikasin, %97,5 Nitrofurantoin, %96,3 Tazobaktam piperasillin, %91,3 Gentamisin şeklinde devam yüksek oranlarda duyarlılıklar tespit edilmiştir. En düşük duyarlılığın %21,3 ile Ampisiline karşı olduğu görülmektedir.

16 farklı antibiyotiğin aynı tabloda yer aldığı istatistiksel verilere bakıldığında Amikasin, Fosfomisin, Nitrofurantoin ve Tazobaktam piperasillin için χ^2 testinin yapılamayacağı görülmektedir. χ^2 uygunluk testinin yapılabilmesi için değerlerin %50'den fazlasının 5 rakamının üzerinde olması gerekmektedir. Bu sağlanamadığı zaman χ^2 testi üzerinden değil, frekans değerleri üzerinden yorumlama yapılmaktadır. Amoksisilin-Klavulanik Asit, Ampisilin, Sefazolin, Sefepim, Sefiksim, Seftazidim, Seftriakson, Siprofloksasin, Sefuroksim Aksetil, Gentamisin, Levofloksasin, Trimetoprim-Sulfametoksazole antibiyotiklerinin duyarlılık gösterdiği izolat sayısı ve direnç gösterdiği izolat sayısı arasında anlamlı bir fark oluşmuştur ($p<0,05$). Sadece Sefiksim, Seftriakson antibiyotiklerinin duyarlılık gösterdiği izolat sayısı ve direnç gösterdiği örnek sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

Amikasin, Fosfomisin, Nitrofurantoin ve Tazobaktam Piperasillin antibiyotikleri için duyarlılık değerleri neredeyse tüm izolatlarda var olduğundan χ^2 testine uygun bulunmamış ve anlamlılık değerleri hesaplanmamıştır.

Antibiyotiklere olan direnç ve duyarlılık durumlarının tespit edilmesinde sonra, ÇDST ile GSBL pozitifliği tespit edilmiş olan 80 *E. coli* izolatlarında GSBL direnç genlerinin varlığı single-step PCR yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Bu amaçla TEM, CTX-M, SHV ve OXA-2 primerleri kullanılarak GSBL pozitifliği doğrulanmıştır. Çalışmanın esası GSBL pozitifliğinden sorumlu en yaygın gen bölgelerinin seçilen primerle amplifikasyonuna dayanmaktadır. Laboratuvar ortamında

in vitro olarak gerçekleştirilen bu uygulama sonucunda amplifiye ürünlerin görüntülenmesi sağlanmıştır.

Çalışmada kullanılan *E. coli* izolatlarının GBSL pozitifliği konvansiyonel yöntem olan ÇDST ile yapılmıştır. Yapılan PCR çalışmaları sonucunda 80 *E. coli* izolatının GBSL pozitifliği 79 (%98,75) olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak konvansiyonel GBSL belirleme yöntemi ile PCR yöntemi arasındaki uyum %98,75 olarak elde edilmiştir.

Yapılan çalışmada kullanılan 4 farklı direnç geni ve bu genlerin idrar izolatlarında bulunma sıklığına ilişkin veriler Tablo 9’da özetlenmiştir.

Tablo 9. GBSL pozitif *E. coli* izolatlarında bulunan direnç genlerinin bulunma sıklığına ilişkin istatistiksel veriler

Direnç Geni		İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
TEM	Negatif	11	13,8	45,050	,001
	Pozitif	69	86,3		
CTX	Negatif	60	75	20,000	,001
	Pozitif	20	25		
SHV	Negatif	41	51,2	0,050	,823
	Pozitif	39	48,8		
OXA-2	Negatif	72	90	51,200	,001
	Pozitif	8	10		

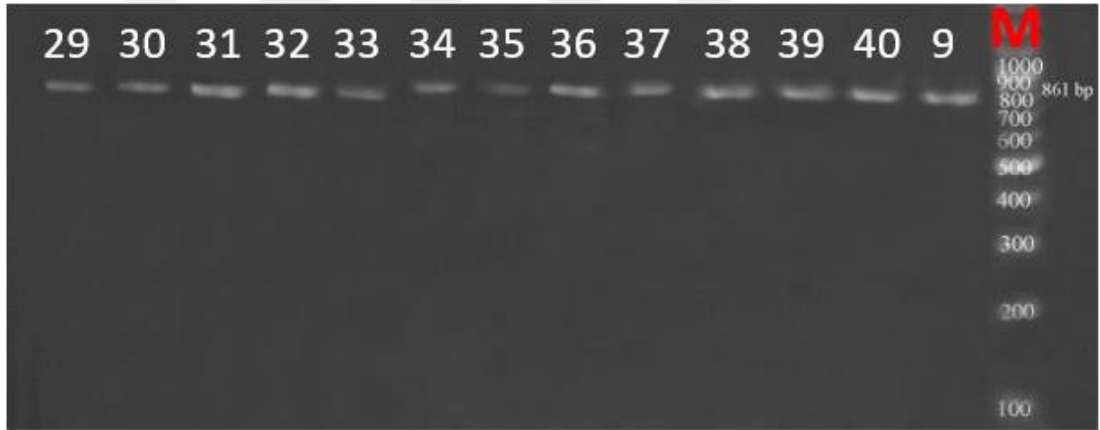
Tablo 9’a göre TEM direnç genini bulunduran izolat sayısı 69 (%86,3) ve bu geni bulundurmeyen izolatların sayısı 11 (%13,8) dir. Yapılan χ^2 uygunluk testine göre TEM direnç genini bulunduran ve bulundurmeyen örneklerin sayısı arasında anlamlı bir fark vardır ($\chi^2_{(1)}=45,050$; $p<0,05$).

Aksine veriler ise, CTX direnç geni için tespit edilmiştir. CTX direnç genini bulundurmeyen izolatların sayısı 60 (%75) olurken, CTX direnç genini bulunduran izolatların sayısı ise sadece 20 (%25) olarak hesaplanmıştır. CTX direnç geni için yapılan χ^2 uygunluk testinde CTX bulunduran/bulundurmeyen sayıları arasında anlamlı bir farklılık elde edilmiştir ($\chi^2_{(1)}=20,000$; $p<0,05$).

SHV direnç geninde, bu geni bulduran izolatların sayısı ile buldurmayan izolatların sayısı yaklaşık dağılım göstermiştir. SHV direnç genini buldurmayan izolatların sayısı 41 (%51,2) ve SHV direnç genini bulduran izolatların sayısı 39 (%48,8) dir. Bu değerler arasında yapılan istatistiksel uygunluk analizinde anlamlı bir fark elde edilememiştir ($\chi^2_{(1)}=0,050$; $p>0,05$).

Son olarak incelenen OXA-2 direnç geni için yapılan incelemede bu geni bulduran izolatların sayısı 8 (%10) ve buldurmayan izolat sayısı ise 72 (%90) olarak tespit edilmiştir. OXA-2 için yapılan istatistiksel hesaplamada elde edilen değerler arası anlamlı bir fark elde edilmiştir ($\chi^2_{(1)}=51,200$; $p<0,05$).

Yapılan elektroforez işlemleri sonucunda, TEM ürünlerinin görüntülediği bant uzunluğu 861 bp olarak elde edilmiş (Hoşoğlu ve diğ., 2007) 9, 29-40 nolu izolatlara ait görüntüler Şekil 4’de sunulmuştur.



Şekil 4. Direnç genlerinden TEM’e ait PCR örnek görüntüleri

CTX-M için elde edilen görüntünün bant uzunluğu ise 554 bp olarak belirlenmiş (Edelstein ve ark., 2003) 50, 51, 52, 53, 54, 55, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 ve 64 nolu izolatlara ait görüntüler Şekil 5’de verilmiştir.



Şekil 5. Direnç genlerinden CTX'e ait PCR örnek görüntüleri

SHV primerinin kullanıldığı PCR çalışmasından elde edilen bant uzunluğu ise 795 bp olarak incelenmiş (Arlet ve ark., 1997) 5, 6, 7, 8 ve 9 nolu izolatlara ait görüntüler Şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 6. Direnç genlerinden SHV'ye ait PCR örnek görüntüleri

Son direnç geni olarak kullanılan OXA-2 için ise görüntülenen bant uzunluğu 478 bp'dir (Kiratisin ve ark., 2008). 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 62, 63, 64 ve 65 nolu izolatlara ait görüntüler Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Direnç genlerinden OXA-2'ye ait PCR örnek görüntüleri

4. 3. Araştırmanın Virülens Genlerinin Varlığına İlişkin Bulgular

Araştırmada kullanılan *E. coli* izolatlarında virülens genlerinin varlığı da araştırma kapsamına dahil edilmiştir. Beş farklı virülens gen seçilerek 80 GSBL pozitif *E. coli* içerisinde oranları belirlenmiştir. Bu çalışmada *pap*, *sfa*, *cnf*, *aer* ve *hly* virülens genleri kullanılmıştır.

Multiplik PCR analizlerinden sonra belirtilen bölgelerde bant oluşturan virülens genleri tablolaştırılmış ve bu veriler Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının virülens genlerini bulundurma sıklığına ilişkin istatistiksel veriler

Virülens Geni		İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
<i>pap</i>	Negatif	45	56,3	1,250	,264
	Pozitif	35	43,8		
<i>sfa</i>	Negatif	71	88,8	48,050	,001
	Pozitif	9	11,3		
<i>cnf</i>	Negatif	65	81,3	31,250	,001
	Pozitif	15	18,8		
<i>aer</i>	Negatif	39	48,8	0,050	,823
	Pozitif	41	51,2		
<i>hly</i>	Negatif	71	88,8	48,050	,001
	Pozitif	9	11,3		

Araştırma için kullanılan 5 farklı virülens geni ile ilgili olarak yapılan istatistiksel hesaplamalarda da değişken sonuçlar elde edilmiştir. Virülens gen olarak *pap* geninin bulunduran izolat sayısı 35 (%43,8) dir. Alınan örneklerden *pap* genini bulunduran ve bulundurmayan izolat sayılarının istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda anlamlı bir fark elde edilememiştir ($\chi^2_{(1)}=1,250$; $p>0,05$).

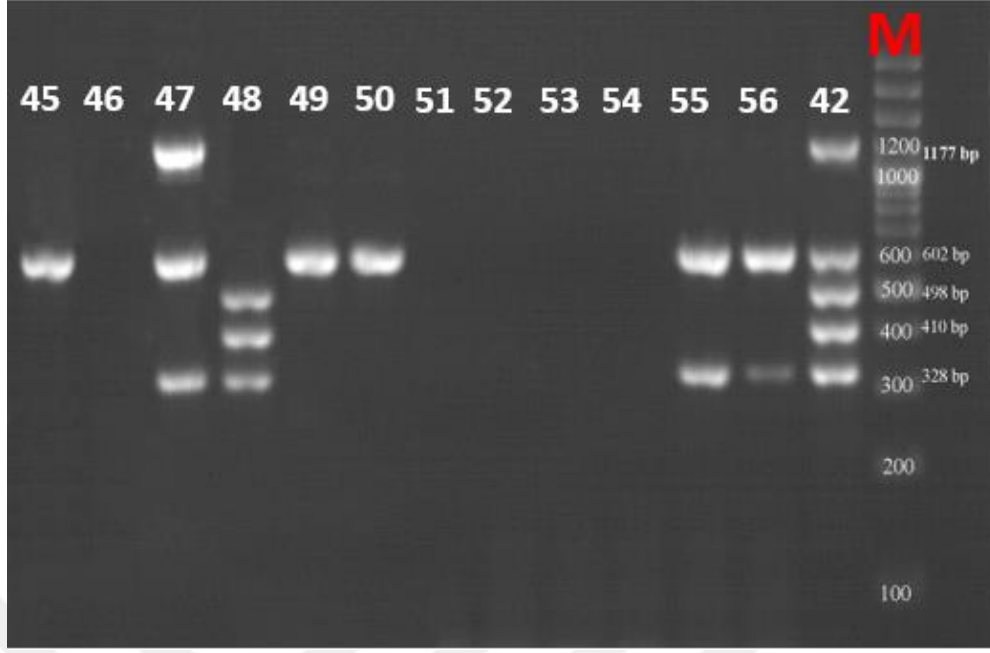
Virülens gen olarak kullanılan *sfa* için durum değişkenlik arz etmiştir. İzolatlardan %88,8'i *sfa* direnç genini bulundurmazken, ancak %11,3'lük bir dilim bu geni taşımaktadır. Yapılan istatistiksel değerlendirmede ise *sfa* bulunduran/bulundurmayan numunelerin sayısal değerleri arasında anlamlı farklılık elde edilmiştir ($\chi^2_{(1)}=48,050$; $p<0,05$).

Dağılımın dengeli olmadığı bir başka virülens gen ise *cnf* dir. İzolatlardan *cnf* genini bulunduranların sayısı 15 (%18,8) olurken, bu geni bulundurmayan izolat sayısı 65 (%81,3) olmuştur. Bu sayısal değerler arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark elde edilmiştir ($\chi^2_{(1)}=31,250$; $p<0,05$).

Farklı bir gen olarak inceleme kapsamına alınan *aer* virülens geni için bulunma ve bulunmamam sayıları arasında yaklaşık bir dağılım elde edilmiştir. İzolatların 39 tanesi (%48,8) bu geni bulundurmazken, 41 tanesinin bu geni bulundurduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel hesaplamada ise *aer* için sayısal değerler arasında anlamlı bir farklılık elde edilememiştir ($\chi^2_{(1)}=0,050$; $p>0,05$).

Nihai olarak ele alınan *hly* virülens geni içinde dağılımın düzensizliği görülmektedir. İncelenen izolatlardan 71 tanesinde *hly* genine rastlanmazken, 9 tanesinde *hly* geninin varlığı belirlenmiştir. Bu da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığı ortaya koymuştur ($\chi^2_{(1)}=48,050$; $p<0,05$).

Multiplex PCR çalışmalarında kullanılan beş farklı virülens gene ait elde edilen görüntüler *pap* için 328 bp, *sfa* için 410 bp, *cnf* için 498 bp, *aer* için 602bp ve *hly* için 1177 bp olarak bildirilmiştir (Yamamoto ve ark., 1995). 42, 45-56 nolu izolatlara ait görüntüler Şekil 8'de verilmiştir.



Şekil 8. Virülens genlerin Multipleks PCR görüntülerine ilişkin örnek resim

4. 4. Araştırmanın Filogenetik Tiplendirme Çalışmalarına İlişkin Bulgular

Çalışmada kullanılan 80 GSBL pozitif *E. coli* izolatlarıyla yapılan son analiz ise filogenetik tiplendirme belirlenmesi yönünde olmuştur. Bu tiplendirme çalışmalarında Clermonth ve ark. (2000) tarafından hazırlanan belirleme tablosu kullanılmıştır (Tablo 11).

Tablo 11. Filogenetik Gruplandırma Tablosu

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

Literatürde verilen filogenetik gruplandırma tablosuna göre bu çalışmada da *chuA*, *yjaA* ve *TSPE4.C2* genleri kullanılmıştır. Genlerin denenmesi sonucu her bir *E.*

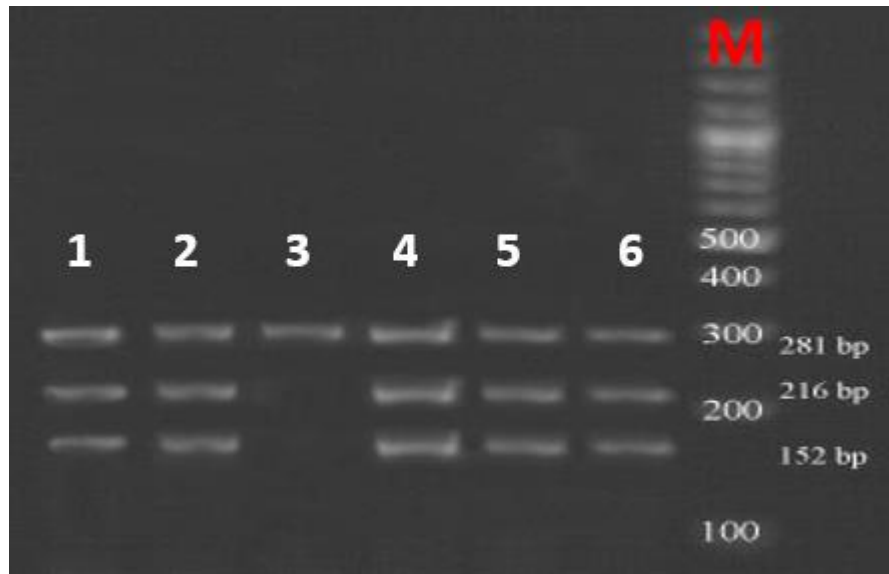
coli izolatının hangi filogenetik sınıfta olduğu belirlenmiştir. Belirlenen sınıflandırmaya ilişkin veriler Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12. GSBL pozitif *E. coli* İzolatlarının Filogenetik Tiplendirmelerinin Sıklığına İlişkin İstatistiksel Veriler

Gen Grubu	İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
A	7	8,8	66,200	,001
B1	15	18,8		
B2	51	63,7		
D	7	8,8		

Üropatojenik *E. coli* izolatlarının filogenetik tiplendirmeleri yapılarak A grubunda olanların sayısı 7 (%8,8), B1 grubunda olanların sayısı 15 (%18,8), B2 grubunda olanların sayısı 51 (%63,7) ve D grubunda olanların sayısı 7 (%8,8) olarak belirlenmiştir. Bu gruplara ait sayısal değerler arasında yapılan χ^2 testinde gruplar arası anlamlı farklılık elde edilmiştir ($\chi^2_{(3)} = 66,200$; $p < 0,05$).

Yapılan Multipleks PCR çalışmaları sonucunda elde bant boyları incelendiğinde 152 bp değerinde elde edilen görüntülerin *TSPE4.C2* genine ait olduğu, 216 bp’de elde edilen değerlerin *yjaA* genine ait olduğu ve 281 bp’de elde edilen değerlerin *chuA* genine ait olduğu literatürde verilmiştir (Yun. ve diğ., 2015). 1-6 nolu izolatlara ait görüntüler Şekil 9’da verilmiştir.



Şekil 9. Filogenetik tiplendirmeye ilişkin örnek Multipleks PCR görüntüleri

4. 5. Araştırmanın İstatistiksel Çalışmalarına İlişkin Bulgular

Bu başlık altında cinsiyet ve yaş aralığı değişkenleri kullanılmış ve sırasıyla bu özelliklerin direnç genlerini bulundurma sıklığı, virülens genlerini bulundurma sıklığı ve filogenetik tiplendirmeye ilişkin sınıflandırma ile ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır. Verilerin istatistiksel hesaplanmasında her bir sınıfa ait sayısal değerler toplamı (frekans toplamı) üzerinden hesaplama yapılmıştır. Bu hesaplamanın yapılmasına uygun olan istatistiksel yöntem ise Parametrik olmayan Örneklem için χ^2 testidir.

İlk olarak araştırmanın örneklemini teşkil eden çocukların cinsiyetleri ile direnç genlerini bulundurma sıklığı arasındaki ilişki istatistiksel olarak hesaplanmış ve veriler Tablo 13’de sunulmuştur.

Tablo 13. Çocukların cinsiyeti ile PCR yöntemiyle belirlenen direnç genlerini bulundurma sıklığı arasındaki istatistiksel veriler

Direnç Geni	Cinsiyet	İzolasyon Durumu	İzolasyon Sayısı	Yüzde	χ^2	p
TEM	Erkek	Negatif	1	5,3	1,513	,219
		Pozitif	18	94,7		
	Kız	Negatif	10	16,4		
		Pozitif	51	83,6		
CTX-M	Erkek	Negatif	13	68,4	0,575	,448
		Pozitif	6	31,6		
	Kız	Negatif	47	77		
		Pozitif	14	23		
SHV	Erkek	Negatif	6	31,6	3,859	,049
		Pozitif	13	68,4		
	Kız	Negatif	35	57,4		
		Pozitif	26	42,6		
OXA-2	Erkek	Negatif	17	89,5	0,008	,930
		Pozitif	2	10,5		
	Kız	Negatif	55	90,2		
		Pozitif	6	9,8		

Çalışmada erkek çocuğu hastaların %94,7'sinde TEM direnç geninin *E. coli* izolatlarında var olduğu belirlenmiştir. Kız çocuklarında ise TEM genini taşıyan izolat oranı %83,6'dır. Araştırma kapsamında incelenen başka bir durum ise izolatların alındığı çocukların cinsiyet ve direnç geni bulundurma arasındaki ilişkidir. TEM direnç geni için yapılan istatistiksel hesaplamada χ^2 uygunluk testi kullanılmış ve kız çocukları ile erkek çocukları arasında TEM genini bulundurma/bulundurmama sıklığı arasında anlamlı bir fark elde edilememiştir ($\chi^2_{(1)}=1,513$; $p>0,05$).

Cinsiyete ilişkin ikinci inceleme geni olarak CTX direnç geni kullanılmıştır. CTX direnç genini *E. coli* izolatlarında bulunduran çocuk hastaların sayısı 6 (%31,6) olurken, kızlar için bu sayı 14 (%23) tür. Bu gen için de yapılan istatistiksel hesaplamada erkek çocukları ile kız çocukları arasında anlamlı bir fark belirlenememiştir ($\chi^2_{(1)}=0,575$; $p>0,05$).

Örneklerin alındığı erkek çocuklardan elde edilen *E. coli* izolatlarının SHV genini bulundurma oranı %68,4 olurken, kız çocukları için bu oran %42,6 olarak ele geçmiştir. Farklı bir direnç geni olarak incelenen SHV için erkek ve kız çocukları arasında yapılan istatistiksel hesaplamada gruplar arası anlamlı fark elde edilmiştir ($\chi^2_{(1)}=3,859$; $p<0,05$).

Son olarak incelenen OXA-2 geni için erkek çocuklarında pozitif değer 2 (%10,5) olurken, kız çocuklarında bu değer 6 (%9,8) bulunmuştur. Yapılan istatistiksel değerlendirmede OXA-2 geni için cinsiyetin anlamlı bir fark ifade etmediği bulgusuna ulaşılmıştır ($\chi^2_{(1)}=0,008$; $p>0,05$).

Direnç genlerinin yaş aralıkları ile karşılaştırılması ve istatistiksel olarak anlamlı bir farkın varlığını incelemek için yapılan hesaplamaya ilişkin veriler Tablo 14'de verilmiştir.

Tablo 14. Çocukların yaş aralıkları ile PCR ile belirlenen direnç genlerini bulundurma sıklığı arasındaki istatistiksel veriler

Direnç geni	Yaş aralığı		İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
TEM	0-2 yaş	Negatif	2	5,3	6,342	,096
		Pozitif	36	94,7		
	3-7 yaş	Negatif	3	14,3		
		Pozitif	18	85,7		
	8-11 yaş	Negatif	4	30,8		
		Pozitif	9	69,2		
	12 ve üstü	Negatif	2	25		
		Pozitif	6	75		
CTX-M	0-2 yaş	Negatif	30	78,9	3,815	,282
		Pozitif	8	21,1		
	3-7 yaş	Negatif	17	81		
		Pozitif	4	19		
	8-11 yaş	Negatif	7	53,8		
		Pozitif	6	46,2		
	12 ve üstü	Negatif	6	75		
		Pozitif	2	25		
SHV	0-2 yaş	Negatif	18	47,4	0,680	,878
		Pozitif	20	52,6		
	3-7 yaş	Negatif	11	52,4		
		Pozitif	10	47,6		
	8-11 yaş	Negatif	7	53,8		
		Pozitif	6	46,2		
	12 ve üstü	Negatif	5	62,5		
		Pozitif	3	37,5		
OXA	0-2 yaş	Negatif	37	97,4	*	*
		Pozitif	1	2,6		
	3-7 yaş	Negatif	20	95,2		
		Pozitif	1	4,8		
	8-11 yaş	Negatif	9	69,2		
		Pozitif	4	30,8		
	12 ve üstü	Negatif	6	75		
		Pozitif	2	25		

* Çizilen karşılaştırma tablosundaki değerlerin %50 ve fazlası 5'ten küçük olduğu için χ^2 uygunluk testi yapılması uygun değildir. Verilere ilişkin değerlendirmeler frekans değerleri üzerinden yapılacaktır.

Yapılan bir diğer istatistiksel inceleme ise, yaş aralıkları ile PCR yöntemiyle incelenen direnç genlerini bulundurma arasındaki ilişkinin irdelenmesidir. İdrar örneği alınan 0-2 yaş aralığındaki çocuklardan elde edilen *E. coli* izolatlarının TEM direnç genini bulundurma oranı %94,7 iken, 3-7 yaş aralığında bu değer %85,7'dir. Diğer incelenen yaş aralıklarından 8-11 yaş için TEM genini izolatlarda bulundurma sıklığı %69,2 olurken, 12 yaş ve üstü için %75'lik değere ulaşılmıştır. Bu veriler arasında yapılan istatistiksel hesaplamada TEM geni için anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($\chi^2_{(3)} = 6,342$; $p > 0,05$). CTX-M direnç genini bulundurma sıklığı bakımında 0-2 yaş grubu için %21,1'lik oran ele geçerken, 3-7 yaşa aralığı için bu değer %19 olarak

bulunmuştur. 8-11 Yaş aralığında CTX-M direnç genini bulunduranların oranı ise %46,2 dir. Son grup olan 12 yaş ve üstünde %25'lik orana rastlanmıştır. Bu değerlerin istatistiksel hesaplanmasında da yaş aralığı değişkeni anlamlı bir farkı ortaya koymamıştır ($\chi^2_{(3)} = 3,815$; $p > 0,05$). SHV direnç geninde de gruplar arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($\chi^2_{(3)} = 0,680$; $p > 0,05$). Zira, 0-2 yaş aralığında SHV genini idrar örneğinde bulunduranların oranı %52,6 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde 3-7 yaş aralığındaki değer de buna yakın olup, %47,6 olarak ele geçmiştir. 8-11 yaş aralığında elde edilen %46,2'lik değer de bu değerlere yakındır. Son olarak 12 yaş ve üstü için %37,5'lik değer elde edilmiştir. OXA-2 için yaş aralığı değerlerine bakıldığında sadece 8-11 yaş aralığı için elde edilen pozitif değer önemli kabul edilmektedir (%30,8). Diğer yaş aralıklarındaki değerler %50'den fazlası 5 ve 5'ten küçük oldukları için yapılacak istatistiksel hesaplama uygun bulunmamışlardır.

Çalışmada PCR yöntemiyle belirlenen virülens genlerin bulunma sıklığı ile cinsiyet arasındaki ilişki benzer bir istatistiksel çalışma ile hesaplanmıştır. Bu verilere ilişkin veriler Tablo 15'de sunulmuştur.

Tablo 15. Çocukların cinsiyeti ile multipleks PCR yöntemiyle belirlenen virülens genlerini bulundurma sıklığı arasındaki istatistiksel veriler

Virülens Gen	Cinsiyet		İzolasyon Sayısı	Yüzde	χ^2	p
<i>pap</i>	Erkek	Negatif	8	42,1	2,026	,155
		Pozitif	11	57,9		
	Kız	Negatif	37	60,7	0,895	,344
		Pozitif	24	39,3		
<i>sfa</i>	Erkek	Negatif	18	94,7	0,895	,344
		Pozitif	1	5,3		
	Kız	Negatif	53	86,9	1,106	,293
		Pozitif	8	13,1		
<i>cnf</i>	Erkek	Negatif	17	89,5	1,106	,293
		Pozitif	2	10,5		
	Kız	Negatif	48	78,7	0,440	,507
		Pozitif	13	21,3		
<i>aer</i>	Erkek	Negatif	8	42,1	0,440	,507
		Pozitif	11	57,9		
	Kız	Negatif	31	50,8	0,895	,344
		Pozitif	30	49,2		
<i>hly</i>	Erkek	Negatif	18	94,7	0,895	,344
		Pozitif	1	5,3		
	Kız	Negatif	53	86,9	0,895	,344
		Pozitif	8	13,1		

Çalışmada geniş bir yer tutan virülens genlerinin varlığı kısmında cinsiyet değişkenine göre elde edilen frekans değerlerine bakıldığında erkek çocuklarında *pap* genini *E. coli* izolatlarında bulundurma sıklığı %57,9 olarak elde edilirken, kızlarda bu oran %39,3'tür. Yapılan istatistiksel hesaplamada kız ve erkekler arasında anlamlı bir farkın varlığına rastlanmamıştır ($\chi^2_{(1)}=2,026$; $p>0,05$).

Sfa virülens genini *E. coli* izolatlarında bulundurma sıklığı bakımından yapılan incelemede erkeklerin %5,3'ünde, kızların ise %13,1'inde bu genini varlığı tespit edilmiştir. Bu değerler arasındaki istatistiksel ilişki de anlamlı bir değer ifade etmemektedir ($\chi^2_{(1)}=0,895$; $p>0,05$).

E. coli izolatlarında *cnf* virülens genini bulundurma sıklığı da düşük seyretmiştir. Erkeklerde %10,5 olan bu değer kızlarda %21,3 olarak belirlenmiştir. Bu değerlere ilişkin istatistiksel hesaplama ise anlamlı bir farklılık ortaya koymamıştır ($\chi^2_{(1)}=1,106$; $p>0,05$).

Virülens gen olarak *aer* dikkate alındığında ise erkek çocukların idrarlarından elde edilen *E. coli* izolatlarında rastlanma sıklığı %57,9 oranında olurken, kız çocuklarında %49,2 değerinde seyretmiştir. Bu değerlere ilişkin yapılan istatistiksel hesaplamada anlamlı bir fark elde edilememiştir ($\chi^2_{(1)}=0,440$; $p>0,05$).

Son olarak ele alınan *hly* geni için yapılan hesaplamalarda erkeklerin idrar örneklerinde bu gene rastlanma oranı %5,3 ve kızlarda rastlanma oranı ise %13,1 olarak bulunmuştur. Bu değer de istatistiksel olarak anlamlılık ifade etmemektedir ($\chi^2_{(1)}=0,895$; $p>0,05$).

Virülens genleri ile ilgili olarak yapılan ikinci istatistiksel hesaplama yaş aralığı değişkeni ile virülens genlerinin varlığının anlamlı bir farklılık oluşturup oluşturmadığıdır. Bu hesaplamalara ilişkin veriler Tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16. Çocukların yaş aralıkları ile multipleks PCR yöntemiyle belirlenen virülens genlerini bulundurma sıklığı arasındaki istatistiksel veriler

Virülens gen	Yaş aralığı		İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
<i>pap</i>	0-2 yaş	Negatif	17	44,7	4,704	,195
		Pozitif	21	55,3		
	3-7 yaş	Negatif	13	61,9		
		Pozitif	8	38,1		
	8-11 yaş	Negatif	10	76,9		
		Pozitif	3	23,1		
12 ve üstü	Negatif	5	62,5			
	Pozitif	3	37,5			
<i>sfa</i>	0-2 yaş	Negatif	33	86,8	*	*
		Pozitif	5	13,2		
	3-7 yaş	Negatif	19	90,5		
		Pozitif	2	9,5		
	8-11 yaş	Negatif	12	92,3		
		Pozitif	1	7,7		
12 ve üstü	Negatif	7	87,5			
	Pozitif	1	12,5			
<i>cnf</i>	0-2 yaş	Negatif	29	76,3	2,888	,409
		Pozitif	9	23,7		
	3-7 yaş	Negatif	18	85,7		
		Pozitif	3	14,3		
	8-11 yaş	Negatif	10	76,9		
		Pozitif	3	23,1		
12 ve üstü	Negatif	8	100			
	Pozitif	0	0			
<i>aer</i>	0-2 yaş	Negatif	20	52,6	5,108	,164
		Pozitif	18	47,4		
	3-7 yaş	Negatif	6	28,6		
		Pozitif	15	71,4		
	8-11 yaş	Negatif	8	61,5		
		Pozitif	5	38,5		
12 ve üstü	Negatif	5	62,5			
	Pozitif	3	37,5			
<i>hly</i>	0-2 yaş	Negatif	34	89,5	*	*
		Pozitif	4	10,5		
	3-7 yaş	Negatif	19	90,5		
		Pozitif	2	9,5		
	8-11 yaş	Negatif	10	76,9		
		Pozitif	3	23,1		
12 ve üstü	Negatif	8	100			
	Pozitif	0	0			

* Çizilen karşılaştırma tablosundaki değerlerin %50'den fazlası 5'ten küçük olduğu için χ^2 uygunluk testi yapılması uygun değildir. Verilere ilişkin değerlendirmeler frekans değerleri üzerinden yapılacaktır.

Araştırmanın bir başka istatistiksel kısmında yaş aralıklarındaki izolat sayıları ile virülens genlerin bulunma sıklığı arasındaki ilişki hesaplanmıştır. 0-2 Yaş aralığında *pap* virülens genini bulunduran izolat sayısı 21 (%55,3) olurken, 3-7 yaş aralığında bu değer 8 (%38,1) dir. Yine *pap* geni için 8-11 yaş arası izolatlarda

bulunma sıklığı 3 (%23,1) olurken 12 yaş ve üstü için 3 (37,5) değerine ulaşılmıştır. Belirlenen değerler arasındaki istatistiksel hesaplamada gruplar arası anlamlı bir farklılık elde edilememiştir ($\chi^2_{(3)}=4,704$; $p>0,05$).

Virülens gen olarak *sfa* nın kullanıldığı çalışmada ise; 0-2 yaş grubu aralığındaki çocuk örneklerinden elde edilen *E. coli* izolatlarından 5 (%13,2) tanesinde *sfa* gen varlığı tespit edilmiş olup, 3-7 yaş aralığında bu değer 2 (%9,5) olmuştur. Diğer yandan 8-11 yaş grubu aralığı için 1 (%7,7) ve 12 yaş üstü için de yine 1 (%12,5) adet *sfa* gen varlığı belirlenmiştir. İzolatların toplam frekans dağılımında %50 değer 5 ve 5'in altında sayıyı temsil ettiği için istatistiksel hesaplama yapılmamıştır.

Üçüncü virülen gen olarak kullanılan *cnf* için 0-2 yaş aralığında 9 (%23,7), 3-7 yaş aralığında 3 (%14,3) ve 8-11 yaş aralığında 3 (23,1) izolatın bu geni bulundurduğu belirlenmiştir. 12 yaş ve üstü için *cnf* genini bulunduran izolata rastlanmamıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirmede belirlenen grup frekansları arasında anlamlı bir farklılık elde edilememiştir ($\chi^2_{(3)}=2,888$; $p>0,05$).

Bir diğer virülens gen olarak *aer* 'in kullanıldığı istatistiksel incelemede ise 0-2 yaş aralığında bu genin bulunma sıklığı 18 (%47,8) olarak bulunmuştur. 3-7 Yaş aralığında bu değer 15 (%71,4) olurken, 8-11 yaş aralığı için 5 (%38,5) değerine ulaşılmıştır. 12 yaş ve üstü için *aer* genini bulundurma sıklığı 3 (%37,5) olarak tespit edilmiştir. Bu frekans değerlerinin istatistiksel hesaplamaları yapıldığında anlamlı bir fark elde edilememiştir ($\chi^2_{(3)}=5,108$; $p>0,05$).

Çalışmada son olarak *hly* virülens geni kullanılmıştır. 0-2 yaş aralığında bu gene rastlanma sıklığı 4 (%10,5), 3-7 yaş aralığında 2 (%9,5) ve 8-11 yaş aralığında 3 (23,1) olmuştur. 12 yaş üstünde ise bu geni taşıyan izolata rastlanmamıştır. Kullanılan frekans değerlerinin %50'si 5 ve 5'in altında olduğu için χ^2 uygunluk testinin yapılması mümkün olmamıştır.

Son aşama ise, cinsiyet ve yaş aralığı değişkenleri ile *E. coli* izolatlarının PCR yöntemiyle belirlenen filogenetik tiplendirilme arasındaki istatistiksel hesaplamayı içermektedir. Bu hesaplama yönelik elde edilen veriler sırasıyla Tablo 17 ve Tablo 18'de verilmiştir.

Tablo 17. Çocukların cinsiyeti ile *E. coli* izolatlarının multipleks PCR yöntemiyle belirlenen filogenetik tiplendirmelerinin sıklığı arasındaki istatistiksel veriler

	Grup	İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
Erkek	A	3	15,8	4,004	,261
	B1	1	5,3		
	B2	13	68,4		
	D	2	10,5		
Kız	A	4	6,6		
	B1	14	23		
	B2	38	62,3		
	D	5	8,2		

Filogenetik tiplendirme çalışmalarında erkek çocukları için A grubunda olanların sayısı 3 (%15,8), B1 grubunda olanların sayısı 1 (%5,3), B2 grubunda olanların sayısı 13 (%68,4) ve D grubunda olanların sayısı ise 2 (%10,5) olmuştur. Kız çocukları dikkate alındığında ise A grubunda olanların sayısı 4 (%6,6), B1 grubunda olanların sayısı 14 (%23), B2 grubunda olanların sayısı 38 (%62,3) ve D grubunda olanların sayısı 5 (%8,2) olduğu tespit edilmiştir. Cinsiyetle filogenetik gruplar arasında anlamlı bir farklılığın varlığını tespit etmek için yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark elde edilememiştir ($\chi^2_{(1)}=4,004$; $p>0,05$).

Tablo 18. Çocukların yaş aralıkları ile *E. coli* izolatlarının Multipleks PCR yöntemiyle belirlenen filogenetik tiplendirmelerinin sıklığı arasındaki istatistiksel veriler

Yaş aralığı	Filogenetik grup	İzolat Sayısı	Yüzde	χ^2	p
0-2 yaş	A	5	13,2	*	*
	B1	10	26,3		
	B2	21	55,3		
	D	2	5,3		
3-7 yaş	A	0	0	*	Çizilen karşılaştırma tablosundaki değerlerin %50'den fazlası 5'ten küçük olduğu için χ^2 uygunluk testi yapılmaması uygundur. Verilere ilişkin değerlendirmeler frekans değerleri üzerinden yapılmıştır.
	B1	2	9,5		
	B2	14	66,7		
	D	5	23,8		
8-11 yaş	A	1	7,7	*	
	B1	2	15,4		
	B2	10	76,9		
	D	0	0		
12 ve üstü	A	1	12,5	*	
	B1	1	12,5		
	B2	6	75		
	D	0	0		

Verilerin filogenetik gruplandırmasında yaş aralıkları ile filogenetik grubun tipi arasında bir ilişkinin varlığını tespit etmek için hesaplanan verilerde 0-2 yaş aralığı için 5 izolat (%13,2) A grubu, 10 izolat (%26,3) B1 grubu, 21 izolat (55,3) B2 grubu ve 2 izolat ise (%5,3) D grubu olarak belirlenmiştir.

3-7 yaş aralığındaki çocuklardan elde edilen *E. coli* izolatlarının filogenetik tiplendirmesine bakıldığında A grubu olan örneğe rastlanmamıştır. B1 grubu 2 (%9,5) izolat, B2 grubu 14 (%66,7) izolat ile D grubu 5 (%23,8) izolat tespit edilmiştir.

8-11 yaş aralığındaki çocuklardan elde edilen *E. coli* izolatlarında filogenetik tip olarak 1 adet (%7,7) A grubu, 2 adet (%15,4) B1 grubu ve 10 adet (%76,9) B2 grubu filogenetik tipe rastlanmıştır. D grubu filogenetik tip ise 8-11 yaş aralığında tespit edilememiştir.

Nihai olarak 12 yaş üstündeki çocuklardan elde edilen *E. coli* izolatlarında ise 1 adet (%12,5) A grubu, 1 adet (%12,5) B1 grubu ve 6 adet (%75) B2 grubu filogenetik tiplendirme elde edilmiştir. D grubu *E. coli* izolatına 12 yaş ve üstünde rastlanmamıştır.

Çalışmada PCR incelemeleri; direnç genlerinin varlığı, filogenetik gruplandırma ve virülens genlerinin varlığı için gerçekleştirilmiştir. Antibiyotiklere karşı dirençli olan izolat sayısı belirlenerek, bu izolatlarda hangi oranda TEM, CTX, SHV ve OXA-2 direnç genlerinin bulunduğu Tablo 19'un ilk kısmında belirtilmiştir. Yine bu dirençli izolatların hangi filogenetik gruplara ait olduğu ise Tablo 19'da ikinci kısımda verilmiştir. Son kısımda ise dirençli izolatların hangi virülens genleri içerdiği yer almaktadır. Bu amaçla Tablo 19, PCR çalışmalarının bir özeti olarak düzenlenmiştir.

Tablo 19. GSBL pozitif idrar izolatlarından antibiyotiklere karşı dirençli olanların direnç geni bulundurma, filogenetik grubu ve virülens geni bulundurmalarına ait veriler

İzolot Sayısı n=80		DİRENÇ GENLERİ				FİLOGENETİK GRUP				VİRÜLANS GENLERİ				
Antibiyotik	Dirençli izolat sayısı	TEM	CTX	SHV	OXA-2	A	B1	B2	D	<i>pap</i>	<i>sfa</i>	<i>cnf</i>	<i>aer</i>	<i>hly</i>
Ampisilin	63	53(%84,1)	20(%31,7)	32(%50,8)	6(%9,5)	6(%9,5)	15(%23,8)	36(%57,1)	6(%9,5)	25(%39,7)	3(%4,8)	10(%15,9)	38(%60,3)	5(%7,9)
Sefazolin	49	39(%79,6)	20(%40,8)	28(%57,1)	3(%6,1)	5(%10,2)	14(%28,6)	28(%57,1)	2(%4,1)	20(%40,8)	2(%4,1)	8(%16,3)	30(%61,2)	4(%8,2)
Sefksim	49	39(%79,6)	20(%40,8)	28(%57,1)	3(%6,1)	5(%10,2)	14(%28,6)	28(%57,1)	2(%4,1)	20(%40,8)	2(%4,1)	5(%16,3)	30(%61,2)	4(%8,2)
Seftazidim	49	39(%79,6)	20(%40,8)	28(%57,1)	3(%6,1)	5(%10,2)	14(%28,6)	28(%57,1)	2(%4,1)	20(%40,8)	2(%4,1)	8(%16,3)	30(%61,2)	4(%8,2)
Sefüroksim aksetil	49	39(%79,6)	20(%40,8)	28(%57,1)	3(%6,1)	5(%10,2)	14(%28,6)	28(%57,1)	2(%4,1)	20(%40,8)	2(%4,1)	8(%16,3)	30(%61,3)	4(%8,2)
Sefriakson	48	38(%79,2)	20(%41,7)	28(%58,3)	3(%6,3)	5(%10,4)	14(%29,2)	28(%58,3)	1(%2,1)	20(41,7)	2(%4,2)	8(%16,7)	29(%60,4)	4(%8,3)
Sefriakson	48	38(%79,2)	20(%41,7)	28(%58,3)	3(%6,3)	5(%10,4)	14(%29,2)	28(%58,3)	1(%2,1)	20(41,7)	2(%4,2)	8(%16,7)	29(%60,4)	4(%8,3)
Amoksisilin-klavunolik asit	30	24(%80)	11(%36,7)	18(%60)	5(%16,7)	5(%16,7)	3(%10)	20(%66,7)	2(%6,7)	13(%43,3)	0(%0)	4(%13,3)	22(%73,3)	3(%10)
Trimetoprim Sulfametoksazol	28	22(%78,6)	8(%28,6)	15(%53,6)	3(%10,7)	2(%7,1)	6(%21,4)	15(%53,6)	5(%17,9)	7(%25)	3(%10,7)	16(%57,1)	16(%67,1)	1(%3,6)
Siprofloksasin	10	5(%50)	3(%30)	5(%50)	2(%20)	1(%10)	1(%10)	7(%70)	1(%10)	3(%30)	0(%0)	1(%10)	7(%70)	0(%0)
Levofloksasin	9	4(%44,4)	3(%33,3)	5(%55,6)	2(%22,2)	1(%11,1)	0(%0)	7(%77,8)	1(%11,1)	3(%33,3)	0(%0)	1(%11,1)	7(%77,8)	0(%0)
Gentamisin	7	6(%85,7)	5(%71,4)	4(%57,1)	1(%14,3)	1(%14,3)	2(%28,6)	4(%57,1)	0(%0)	1(%14,3)	0(%0)	1(%14,3)	4(%57,1)	0(%0)
Tazobaktam piperasilin	3	2(%66,7)	1(%33,3)	3(%100)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	3(%100)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	2(%66,7)	0(%0)
Amikasin	2	2(%100)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	2(%100)	0(%0)	0(%0)	2(%100)	0(%0)	1(%50)	1(%50)	0(%0)
Nitrofurantoin	2	2(%100)	1(%50)	0(%0)	0(%0)	1(%50)	0(%0)	1(%50)	0(%0)	1(%50)	0(%0)	0(%0)	1(%50)	0(%0)
Fosfomisin	0	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)	0(%0)

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Araştırmanın sonuçları elde edilen verilerin sıralamasına uyum göstermesi bakımından dört farklı gruba ayrılmıştır. Ayrıca bu bölümde elde edilen sonuçların ulusal ve uluslararası çalışmalar ile uyumluluk/farklılığını gösteren çalışmalara yer verilmiştir.

5. 1. Araştırmanın Genel ve Demografik Bulgularından Elde Edilen Sonuçlar

Hem ulusal hem de uluslararası kaynaklara bakıldığında idrar yolu enfeksiyonlarının primer etkeni olarak *E. coli* belirlenmiştir. *E. coli*, enterik bakterilerin içerisinde en bilinenidir. İdrar yolu enfeksiyonlarının ilk basamağı, genellikle periüretal kısımda enterik bakterilerin kolonize olması ve bu sayede virülens etkiler aracılığı ile patojen özellik kazanıldığı ifade edilmektedir. Sonrasında bulunan bölgedeki dokularda inflamasyonun geliştiği ve bunu takiben mesane ve böbreklerde enfeksiyon oluştuğu bildirilmiştir. *E. coli* enfeksiyonlarının yaygınlığının bu etkiler ile doğrudan ilgili olduğu düşünülmektedir (Tapısız, 2013).

Diğer yandan *E. coli*'de görülen patojen özelliğın, konağı tutunma, tutunduğı bölgeye yayılma ve yangı oluşturma kabiliyetinin yüksek olmasından kaynaklandığı belirtilmektedir. Burada *E. coli*'nin sahip olduğı virülens faktörleri nedeniyle, idrar yolu enfeksiyonlarının en yaygın etkeni olarak açıklanmaktadır. Sahip olunan bu virülens faktörlerin toksinler, adezinler başta olmak üzere demir toplama etkileri, lipopolisakkarit kapsül ve invazinler olduğı ifade edilmektedir (Kudinha, 2017).

İdrar yolu enfeksiyonlarının konu edinildiğı ve çocukluk dönemini kapsayan çalışmalarda da farklı oranlar gözlenmesine rağmen *E. coli* en önemli enfeksiyon etkeni olarak bulunmuştur. 2008 Yılında yapılan ve 150 çocuğı ait idrarın incelendiğı bir çalışmada, izole edilen *E. coli* sıklığı 113 (%88,7) olarak bulunmuştur. *Klebsiella* bu çalışmada 10 (%6,7) sayısı ile ikinci sırada yer almıştır (Cebe, 2008). Yine Türkiye'de bir üniversite hastanesinde 392 çocuk hastanın idrar örnekleri incelenmiş ve *E. coli* 268 (%68,4) sayısı ile en yaygın enfeksiyon etkeni olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada da *Klebsiella* 47 (%12) sayısı ile ikinci sırada izlenmiştir (Çoban, 2014). Yurt dışı kaynaklı çalışmalar incelendiğinde durumun sıralama olarak farklı olmadığı görülmektedir. İsrail'de bir afilyasyon hastanesinde yapılan çalışmada 80 vaka

incelenmiş ve bunların 61 (%76) tanesinde *E. coli*'ye rastlanmıştır. Yaygın etken olan *E. coli*'yi 12 (%15) sayısı ile *Klebsiella pneumoniae* takip etmiştir (Megged, 2014). Bağdat'ta merkezi bir eğitim hastanesinde yakın zamanlarda yapılan bir araştırmada ise 155 çocuk hastanın 78 (%50) tanesinde idrar yolu enfeksiyonu etkeni *E. coli* ve 21 (%13,5) tanesinde ise enfeksiyon etkeni *K. pneumonia* olarak bulunmuştur (Abdul Raheem, 2019).

E. coli'nin idrar yolu enfeksiyonlarına sebep olma potansiyeli incelenen araştırmalarda ilk sırada yer almıştır. Yapılan bu çalışmada da *E. coli* %67,7 (237) izolatları ilk sırada yer almış ve yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermiştir.

Yapılan bu çalışmada genel bulgular kısmında kullanılan demografik özellikler, cinsiyet ve yaş aralıklarıdır. Çocukların cinsiyet özellikleri ifade edilirken, çalışma içerisinde kız çocukları ve erkek çocukları şeklinde tanımlaması yapılan grup, 0-18 yaş aralığındaki kız ve erkek çocuklarıdır.

Ginsburg ve McCracken (1982) yaptıkları bir çalışmada, *E. coli*'ye bağlı enfeksiyonlarda, ilk üç aya kadar erkek çocuklarının, ilk üç aydan sonra kız çocuklarının idrar yolu enfeksiyonuna yakalanma riskinin fazla olduğunu ifade etmişlerdir. İlk üç ay sonrasında *E. coli* kaynaklı İYE'nuna maruz kalan kız çocuklarının oranını %89 olarak açıklamışlardır. Son on yıldaki çalışmalara bakıldığında ise mevcut durumun çok fazla değişmediği gözlemlenmiştir (Sharma ve ark., 2011; Singh ve Madhup, 2013; Sobel ve Kaye, 2015). İdrar yolu enfeksiyon etkeni *E. coli* olan ve 268 çocuk hasta ile yapılan bir çalışmada; hastalardan 224 (%83,6) tanesinin kız çocuğu olduğu ve 44 (%16,4) tanesinin erkek çocuğu olduğu belirtilmiştir (Çoban ve ark., 2014).

Daha kapsamlı bir çalışmada ise bir üniversite hastanesine gelen 561 çocuk hasta, çalışma grubu olarak seçilmiştir. Bu çalışmada İYE'lerinde *E. coli* rastlanan kız çocuklarının sayısı 488 (%87) ve erkek çocuklarının sayısı 73 (%13) olarak bildirilmiştir (Ünsal, 2018).

Dünyadaki benzer çalışmalara bakıldığında ise; kız çocuklarına ait enfeksiyon oranı yüksekliğinin devam ettiği görülmektedir. *E. coli*'nin en yaygın enfeksiyon etkeni olarak tespit edildiği 163 vakanın yer aldığı bir çalışmada 48 (%29,45) erkek çocuğu enfekte olurken, kız çocuklarının sayısı 115 (%70,55) olmuştur (Giri ve ark., 2020). Yine 100 çocuk hastanın İYE bulgularının değerlendirildiği bir çalışmada, kız

çocuklarının oranı erkek çocuklarından %38 daha fazla bulunmuştur (Ghosh, Saha ve Islam, 2020).

Üç aya kadar erkek çocuklarında meydana gelen ve primer etkeni *E. coli* olan idrar yolu enfeksiyonlarının sebebi, sünnet olmamış çocuklarda prepisyum kıvrımlarının olması ve bu kısımlarda bakteri yoğunluğunun fazla olması ile açıklanmaktadır. Sünnet olmayan çocuklarda zamanla bu kıvrımlar geri çekilir ve enfeksiyona riski azalır ama bu enfeksiyon etkilerinin sona ermesi anlamına gelmemektedir (Wald, 2014).

Kız çocuklarında *E. coli* kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının fazla olması, anatomik yapı ile ilişkilendirilmektedir. Kız çocuklarında üretranın kısa olması ve anüse yakın olması enfeksiyon sıklığının nedeni olarak açıklanmaktadır (Sharma ve ark., 2011; Singh ve Madhup, 2013; Sobel ve Kaye, 2015).

Bu çalışmada kullanılan GSBL pozitif 80 idrar izolatının 19 tanesi (%23,8) erkek çocuklarına, 61 tanesi (%76,2) kız çocuklarına aittir. Bu sonuç, kız çocuklarının erkek çocuklarına oranla daha sıklıkla idrar yolu enfeksiyonlarına yakalandığı ifade etmektedir. Bu farklılık istatistiksel olarak da incelenmiş ve idrar yolu enfeksiyonuna yakalanan kız çocukları ile erkek çocuklarının sayısal değerleri arasındaki farklılık anlamlı olarak belirlenmiştir ($p<0,05$).

İYE'lerini konu edinen araştırmalara tarihsel süreç içerisinde bakıldığında, çocukluk çağı boyunca kız çocuklarının enfeksiyon oranının erkek çocuklarına oranla daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. Bilimsel çalışmalardan elde edilen sonuç ile yapılan bu çalışmanın sonuçları uyumlu olarak görülmüştür.

İYE ile yaş arasındaki ilişkiye yönelik yapılan çalışmalar dikkate alındığında, *E. coli* kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının özellikle çocukların erken yaşlarında geliştiği ifade edilmektedir. Bu durum, çocukların anatomik yapılarından ötürü asendan yolla bulaşmaya daha yatkın olmaları ile açıklanmaktadır. Erken yaşlarda kız çocuklarının üretra ile anüs arasındaki mesafenin daha kısa olması ve erkek çocuklarında sünnet derisinin altında biriken bakterilerden kaynaklı olduğu belirtilmiştir. Bu durum Wiswell ve Roscelle (1986) tarafından yapılan çalışma ile desteklendiği gibi daha sonraki dönemlerde yapılan başka çalışmalar ile de destek bulunmaktadır (Wald, 2014; Sharma ve diğ., 2011; Singh ve Madhup, 2013; Sobel ve Kaye, 2015).

İdrar yolu enfeksiyonlarının etkeni olan *E. coli* ile yaş grupları arasındaki ilişkiyi belirlemek ve literatürdeki alan çalışmalarının uyumunu kontrol etmek için belirli bir zaman aralığında yapılan bazı çalışmalar incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada, çocuk hastanesi ve dokuz farklı pediatri kliniği araştırma evreni olarak seçilmiştir. Ayakta tedavi gören 299 çocuğun verilerinin sergilendiği bu çalışmada, 123 çocuk 0-2 aralığında yer almıştır (%41,2). Çocuklardan 2-4 yaş aralığında olanların sayısı 98 (%32,7) olurken, 4-6 yaş aralığında olanların sayısı 78 (%26,1) olarak belirtilmiştir. Yaş aralıkları dikkate alındığında, yoğunluğun 0-2 yaş aralığında olduğu ve daha ileri yaşlarda İYE'lerinde düşüş gözlemlendiği ortaya koymuştur (Marild ve Jodal, 1998).

Yine Wani ve arkadaşlarının (2016) yılında yapmış olduğu çalışmada farklı yaş aralıklarında 259 adet hasta ile çalışılmıştır. *E. coli*'ye bağlı İYE öyküsü bulunan bu hastaların 114 tanesinin (%44,1) 0-2 yaş aralığında olduğu belirlenmiştir. Yaş aralığı 2-5 olanlarda ise 80 hastaya rastlanmıştır (%30,8). Hastaların 5 yaş üzeri olanlarının sayısı ise 65 ile (%25,1) sınırlı kalmıştır. Bu çalışmada da çocukların ileri yaşlarında daha az idrar yolu enfeksiyonuna maruz kaldığı açıklanmıştır.

Bu çalışmanın diğer demografik değişkeni olarak ele alınan yaş aralıkları, Senemoğlu (2018) tarafından bildirilen ve çocukların gelişim dönemlerine göre yapılan sınıflandırmadan oluşmaktadır. Araştırmanın bulgular kısmında detayları verilen bu sınıflama gelişim basamaklarını içerdiği için tercih edilmiştir.

Bu çalışmada demografik ikinci değişken olan yaş aralıklarına bakıldığında, önemli farklılıkların olduğu ve yaş aralıkları değiştikçe enfeksiyon miktarının da değiştiği görülmüştür. Çalışmada idrar izolatları alınan çocukların yaş aralıklarına göre *E. coli* kaynaklı İYE'lerine yakalanma oranları irdelenmiş ve 0-2 yaş aralığındaki çocukların 38'inin (%47,5) *E. coli* kaynaklı İYE'na yakalandığı belirlenmiştir. Bu yapılan gruplandırma içerisindeki en yüksek orandır. İlerleyen gelişim dönemlerinde İYE sıklığının sürekli düşme eğiliminde olduğu sonucuna varılmıştır. 3-7 Yaş aralığında 21 (%26,2) çocuk hasta grubunda yer alırken, 8-11 yaş aralığında İYE'ye yakalanan 13 (%16,3) çocuk vardır. 12 yaş ve üstü için elde edilen değer 8 (%10) olmuştur.

0-2 Yaş aralığında 38 (%47,5) olan *E. coli* kaynaklı idrar yolu enfeksiyon oranının 12 yaş üstünde 8 (%10) olarak belirlenmesi, zaman geçtikçe çocuklarda enfeksiyon oluşumunun azaldığı şeklinde değerlendirilmiştir. Yaş aralığı değerlerine

bakıldığında literatürdeki çalışmalar ile bu çalışmanın uygunluk gösterdiği belirlenmiştir (Wald, 2014; Sharma ve diğ., 2011; Singh ve Madhup, 2013; Sobel ve Kaye, 2015).

Yaş artışına bağlı olarak enfeksiyon oranının azalması istatistiksel olarak da irdelenmiştir. Bu durumun anlamlı bir azalma olup olmadığını kontrol etmek için yapılan istatistiksel hesaplamada gerçekten yaş grupları ile hastalığa yakalanma sıklığı arasında anlamlı bir fark oluşturduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çalışmanın planlanmasında idrar yolu enfeksiyonlarının aylara ya da mevsimlere göre sayısal bir artış gösterip göstermediği de incelenmiştir. İdrar örneklerinin bir yıllık periyot içerisinde toplanmasının amacı da bu incelemeyi yapabileme arzusudur. Örneklerin toplamasına başlandığı ay Ocak-2020'dir. Bu yıla ait Ocak ve şubat aylarında elde edilen izolat sayısı 39 (%48,75) ile çalışmanın yaklaşık yarısını oluşturmuştur. Ancak mart ayında başlayan Covid-19 pandemisi nedeniyle örneklerin alındığı hastaneye gelen çocuk hasta sayısı hızla azalmaya başlamış ve Nisan-Ağustos ayları arasında neredeyse sifıra yaklaşmıştır.

Eylül-2020 itibarıyla hareketlenme beklenirken tekrar ortaya çıkan salgın aynı korkuyu insanlara hissettirmiş, istenilen hasta sayısına son dört ayda da ulaşamamış ve izolasyon sayısı 28 ile sınırlı kalmıştır. Yaşanan bu dengesiz dağılım istatistiksel olarak da gözlemlenmiş ve aylar itibarıyla gelen hasta sayılarında anlamlı farklılık elde edilmiştir ($p<0,05$).

Yaşanan bu olumsuz durum elbette ki sağlıklı verilerin elde edilmesini engellemiştir. Zira sayısal değerleri doğrudan etkileyen pandemi gelişimi, yapılacak mevsim/ay boyutundaki hesaplamaları da anlamsız hale getirmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak yapılacak değerlendirmenin sağlıklı sonuçları içermeyeceği kanaati ile bu aşamadaki literatür ilişkilendirmesine yer verilmemiştir.

Farklı bir parametre olarak incelenen durum ise, izole edilen *E. coli* izolatlarının geldiği polikliniklere ilişkin verilerdir. Çalışılan konu doğrudan çocuklar ile ilgili olduğundan, beklenti en fazla izolatın çocuk hastalıkları polikliniğinden gelmesi yönünde olmuştur. Elde edilen sonuçlar, 71(%88,8) izolatla bu beklentiye desteklediği yönündedir. İdrar yolu enfeksiyonlarının ikincil polikliniği olabilecek üroloji polikliniğinden gelen izolat sayısı ise 6 (%7,5) olmuştur. Diğer polikliniklerden gelen hasta sayısı ise 3 (%8) gibi bir miktarı ifade etmektedir. Bu sayılar, istatistiksel

değerlendirmeye de tabi tutulmuş ve bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

5. 2. Araştırmanın Antibiyogram Testi ve Direnç Genlerinin Varlığına İlişkin Sonuçlar

Araştırmanın antibiyogram testi incelemelerinde elde edilen sonuçlar incelendiğinde *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnci incelenen 16 farklı antibiyotiğe karşı farklı değerler elde edilmiştir.

İzole edilen 80 adet GSBL pozitif *E. coli* izolatından en fazla direnç tespit edilen antibiyotik 63 (%78,8) izolat ile Ampisilin olarak belirlenmiştir. *E. coli* izolatlarının 49 (%61,3)'un ise Sefazolin, Sefiksim, Seftazidim ve Sefuroksim aksetile karşı direnç belirlenmiştir. Seftriaksona karşı 48 (%60) izolatta direnç belirlenirken, Sefepim'in karşılaştığı dirençli izolat sayısı 46 (%57,5) olarak bulunmuştur. *E. coli* izolatlarından 30 adeti Amoksisilin-Klavulanik Asit direnci belirlenmiş ve bunu 28 (%35) ile Trimethoprim Sulfametoksazol takip etmiştir. Daha sonra sırasıyla, Siprofloksasin 10 (%12,5), Levofloksasin 9 (%11,3), Gentamisin 7 (%8,8), Tazobaktam Piperasillin 3 (%3,8) ve Amikasin ile ve Nitrofurantoin 2 (%2,5) oranında izolat dirençli olarak tespit edilmiştir. GSBL pozitif bütün izolatların Fosfomisine duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla yapılan bu çalışmada izole edilen 80 adet GSBL hiçbir izolatta Fosfomisin direnci belirlenmemiştir.

Elde edilen bu değerlerin alana özgü çalışmalar ile karşılaştırılmasından elde edilen sonuçlar Tablo 20'de verilmiştir.

Tablo 20. Antibiyotik direnç durumlarının literatürle karşılaştırılması

	¹ (%)	² (%)	³ (%)	⁴ (%)	⁵ (%)	⁶ (%)	⁷ (%)	⁸ (%)	⁹ (%)
Ampisilin	78,8	79	-	30,4	58,2	87,1	62	64,1	-
Sefazolin	61,3	-	48,1	30,5	-	-	7	-	-
Sefiksim	61,3	-	-	26,3	-	-	-	2,6	17,8
Seftazidim	61,3	-	-	11	0	0	-	-	-
Sefuroksim aksetil	61,3	21,9	30,8	20,4	-	-	18	-	-
Seftriakson	60,0	6,8	-	17	0	0	17,2	69,2	38,9
Sefepim	57,5	-	-	4	-	0	-	1,3	-
Amoksisilin- klavulanik asit	37,5	53	28,6	34,8	12,7	-	10	-	-
Trimetoprim sulfametaoksazol	35,0	-	-	43,1	40,9	71,4	44	38,5	-
Siprofloksasin	12,5	-	-	9,4	1,8	38,6	15	48,7	26,7
Levofloksasin	11,3	-	-	-	-	24,3	13	-	-
Gentamisin	8,8	6,6	12	13,1	3,6	35,7	10	9	24,4
Tazobactam piperacillin	3,8	-	-	-	-	52,9	3	-	-
Amikasin	2,5	11,5	3,8	3,2	-	25,7	3	7,7	25,6
Nitrofurantoin	2,5	-	6,8	3,6	2,7	51,4	0	11,5	2,3
Fosfomisin	0,0	-	-	1,9	-	-	1	-	-

¹Alkan, 2021; ²Çetin ve ark., 2006; ³Cebe ve ark., 2008; ⁴Çoban ve ark., 2014; ⁵Robino ve ark., 2014; ⁶Koçak ve ark., 2015; ⁷Karacı ve ark., 2017; ⁸Abdul Raheem ve ark., 2019; ⁹Ghasemi ve ark., 2020

Ampisilin, amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin-sulbaktam ve ko-trimoksazol gibi antibiyotikler oral yolla kolayca alınabildiği için klinisyenler tarafından sıkça tercih edilen ilaçlardır. Bu ilaçlara karşı *E. coli*'nin yüksek oranda direnç göstermesi bu kullanım sıklığının bir sonucu olarak ifade edilmektedir. *E. coli*'nin bu direnç durumu dünya çapında yaygınlık gösterirken, ortalama değer olarak Afrika'da %100, Asya'da %82 ve Avrupa'da %50 olarak belirlenmiştir (Mir ve ark., 2002; Adjei ve Opoku, 2004; Bouallegue ve ark., 2004).

Bir başka görüş ise bu durumu daha çok direnç genlerinin varlığı ile açıklamaktadır. Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği 1999'da ampisillin ve amoxicillini zayıf etkisi yüzünden İYE tedavisi için uygun görülmemiştir. Ortaya

çıkan bu direnç profilini ise suşların yapısında bulunan ve %65 oranında yaygınlık gösteren *blaTEM/blaSHV* gibi dar spektrumlu β -laktamaz mevcudiyeti ile açıklamışlardır (Warren ve ark., 1999)

E. coli direnç sıklığının yaygınlığı nedeniyle farklı tedavilerde önerilmektedir. Antibiyotiklere karşı oluşan direncin azaltılması için idrar yolu enfeksiyonu gelişen çocukların hastaneye yatırılması ve damar için antibiyotik kullanımı yerine oral sefixime tedavisi önerilmiştir (Hoberman ve ark., 1999).

Farklı zamanlarda ve farklı gruplarla yapılan akademik çalışmalar incelendiğinde, *E. coli* tarafından yüksek oranda direnç geliştirilen antibiyotiklerden birisi Ampisilin olmuştur. İncelenen çalışmaların bir kısmında Ampisilin kullanılmış ve en fazla dirençle karşılaşılan antibiyotiğin Ampisilin olduğu görülmektedir (Çetin ve ark., 2006; Robino ve ark., 2014; Koçak ve ark., 2015; Karacı ve ark., 2017). Bazı çalışmalarda ise Ampisilin'in ikinci sırada yer aldığı görülmüştür (Çoban ve ark., 2014; Abdul Raheem ve ark., 2019). Bu sonuçlar, yapılan çalışma ile uyumluluk göstermektedir (Tablo 19).

Çalışmada kullanılan ve 3. Kuşak sefalosporinler grubunda yer alan Sefiksim ve Seftazidim gibi antibiyotiklerin dirençle karşılaşma oranlarının yükselmesi son zamanlardaki kullanım alışkanlıklarının artması ile ifade edilmektedir. Bu tür antibiyotiklerin profilaktik kullanımı nedeniyle direnç artışının ortaya çıktığı açıklanmıştır (Erdoğan ve Arslan, 2011). Enterik bakterilerin üçüncü ve dördüncü kuşakta yer alan sefalosporinlere karşı direnç geliştirmelerinin diğer bir nedeni olarak genişletilmiş beta laktamaz üretmeleri olarak gösterilmektedir (Erdoğan ve Arslan, 2011). Yapılan bir çalışma, ceftriaxonun %50 oranında dirençle karşılaşmasına rağmen, halen kullanılmakta olduğunu ifade etmektedir. Hatta bu çalışmada ceftriaxonun idrar yolu enfeksiyonlarında kullanımdan çıkarılması da önerilmektedir (Ghasemi ve ark., 2020).

Yapılan çalışmada *E. coli* tarafından Sefazolin, Sefepim, Sefiksim ve Seftazidim karşı direnç geliştiren izolat sayısı 46-49 arasında (%57,5-61,3) arasında seyretmiştir. Literatürle yapılan karşılaştırmada diğer çalışmaların hiçbirinde bu düzeyde yüksek bir direnç söz konusu olmamıştır (Cebe ve ark., 2008; Çoban ve ark., 2014; Robino ve ark., 2014; Koçak ve ark., 2015; Karacı ve ark., 2017; Abdul Raheem ve ark., 2019; Ghasemi ve ark., 2020). Sefuroksim aksetiliçin yapılan çalışmada

bulunan 49 (%61,3) değeri ise karşılaştırmada kullanılan diğer çalışmalardaki oranın çok üstündedir (Çetin ve ark., 2006; Cebe ve ark., 2008; Çoban ve ark., 2014; Karacı ve ark., 2017). Bu yüksek oranların çalışmada kullanılan *E. coli* izolatlarının tamamının GSBL pozitif olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Ceftiaxone antibiyotiğinde elde edilen %60'lık değer sadece Abdul Raheem ve ark. (2019) ile yakınlık göstermektedir. Karşılaştırmada kullanılan diğer kaynaklardaki değerler ile yapılan çalışmanın değerleri farklılık göstermektedir (Çetin ve ark., 2006; Çoban ve ark., 2014; Robino ve ark., 2014; Koçak ve ark., 2015; Karacı ve ark., 2017; Ghasemi ve ark., 2020).

Amoksisilin-klavulanik asit de hekimlerin herhangi bir antibiyogram yapmadan yaygın olarak önerdikleri ilaç grubundadır. Direnç gelişiminin bir nedeni olarak bu durum açıklanırken, idrar kültürü alınmadan önceki 6 aylık periyotta antibiyotik kullanımının da direnç gelişimini artırdığı belirtilmektedir (Obi, Tarupiva ve Simango, 1996; Sotto ve ark., 2001; Goldraich ve Manfroi, 2002)

Amoksisilin-klavulanik asit için elde edilen direnç değeri 30 (%37,5) bulunmuştur. Bu sonuç Çoban ve arkadaşlarının (2014) çalışmasıyla uyumlu bulunmuştur. Literatürdeki diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlar, yapılan bu çalışması ile farklılık göstermektedir (Çetin ve ark., 2006; Cebe ve ark., 2008; Robino ve ark., 2018; Karacı ve ark., 2017). Farklılık gösteren çalışmalara bakıldığında kendi aralarında tutarlılık olmadığı belirlenmiştir. Bu durum antibiyotik direnç mekanizmalarının farklı sayısal değerlerle ortaya çıkabildiğini ifade etmektedir.

Amerikan Enfeksiyon hastalıkları Derneği 2011 yılında basit idrar yolu enfeksiyonları için birinci basamak tedavide nitrofurantoin ve Trimetoprim-sulfametoksazoleyı önermiştir. Ancak daha sonra tespit edilen %40,9'luk Trimetoprim-sulfametoksazole direncinden dolayı, ampirik tedavilerde bu etken maddenin kullanımından vazgeçilmiştir (Garin ve ark., 2006).

Diğer yandan çocukluk çağı İYE'lerinde akla gelen ilk seçenek olarak birinci kuşak sefalosporinler, amoksisilin-klavulanik asit ve Trimetoprim-sulfametoksazole karşı direnç bulunması da bu ilaçların yaygın kullanımları ile açıklanmaktadır (Çoban ve ark., 2014). Bu sonuçların bir başka önerisi ise Ghasemi ve arkadaşlarından (2020) gelmiş ve antibiyotik kullanımında günlük kullanımlardan vazgeçilmesi, sık ve aşırı antibiyotik kullanımından kaçınılması vurgulanmıştır.

Bu çalışmada Trimetoprim-Sulfametoksazole için 28 (%35)'lik direnç değeri elde edilmiştir. Farklı çalışmalar ile yapılan bu çalışma yakın değerler ifade ederken (Çoban ve ark., 2014; Robino ve ark., 2014; Karacı ve ark., 2017; Abdul Raheem ve ark., 2019), farklı değerlerin elde edildiği çalışma da mevcuttur (Koçak ve ark., 2015).

Siprofloksasin direnci değerlendirildiğinde ise daha önceden alınan Trimetoprim-Sulfametoksazole tedavisi ile ilişkilendirme yapılmaktadır. Zira yaygın kullanımı olan Trimetoprim-Sulfametoksazole profilaksisini alan bireylerde Gentamisin veya Siprofloksasine karşı duyarlılığın azaldığı ve direncin artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu direnç artışına, daha önceden tedavilerde kullanılan antibiyotikler ile Gentamisin veya Siprofloksasin'in etkileşiminin neden olabileceği belirtilmiştir (Cheng ve ark., 2008).

Siprofloksasine direnç değerlerine bakıldığında değişken oranlar burada da dikkati çekmektedir. Bu çalışmada elde edilen 10 (%12,5)'luk değere yakın değerleri Çoban ve arkadaşları (2014) ve Karacı ve arkadaşlarının (2017) yaptığı çalışmalarda görürken, diğer çalışmaların değerleri farklılık göstermektedir (Robino ve ark., 2014; Koçak ve ark., 2015; Abdul Raheem ve ark., 2019; Ghasemi ve ark., 2020).

Diğer yandan Levofloksasin için çalışmada elde edilen 9 (%11,3)'luk direnç oranının, incelenen diğer çalışmalardan farklı sonuç oluşturmadığı görülmüştür (Koçak ve ark., 2015; Karacı ve ark., 2017). *E. coli* izolatlarının direnç genlerinin diğer antibiyotiklere olan etkilerinin yüksek olduğu durumlarda Levofloksasin karşı direnç gelişiminin de doğal bir sonuç olarak ortaya çıktığı ifade edilmektedir (Johnson ve ark., 2008).

Gentamisin, aminoglikozitler sınıfındaki bir antibiyotiktir. Aminoglikozitler elektrostatik çekim etkisi ile hücre duvarına yapışan ve bunu hızlı gerçekleştiren bileşik gruplarıdır. Bu sebeple İYE'lerde tedavi edici özellikleri fazladır. Aminoglikozitler, lipopolisakkaritlerde bulunan magnezyum ve kalsiyum iyonlarının yerini alarak bu bölgeye yerleşir. Orada bulunan zarı zedeleyerek hücre duvarının geçirgenliğini bozar ve bu şekilde etkisini göstermeye başlar (Yaşar ve ark., 2018; Mıstık, 2000).

Bu araştırmada Gentamisin bir diğer antibiyotik olarak kullanılmış ve karşılaştığı direnç oranı 7 (%8,8) olarak belirlenmiştir. Sık kullanılan bir antibiyotik olmadığından ve aminoglikozitlerin etki mekanizmasından dolayı duyarlılığının

yüksek olduğu düşünülmektedir. Bu değerler Çetin ve arkadaşları (2006), Cebe ve arkadaşları (2008), Çoban ve arkadaşları (2014), Robino ve arkadaşları (2014), Karacı ve arkadaşları (2017) ve Abdul Raheem ve arkadaşları (2019) ile yakın değerleri ihtiva ederken, Koçak ve arkadaşları (2015) ve Ghasemi ve arkadaşları (2020) ile farklılık arz etmektedir. Bu farklılığın araştırmaların yapıldığı bölgelerde farklı antibiyotik kullanım ilkelerinin olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

β -laktam antibiyotiklere karşı oluşan bakteriyal direncin majör belirleyicisi olarak β -laktamaz üretimi gösterilmektedir (Lindberg ve Normark, 1986; Bush, 1988; Jarlier ve ark., 1988). Bir β -laktamaz inhibitörü olan Tazobaktam, Piperasilin veya diğer antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanılmakta ve β -laktamaz üreten bakterilere karşı kullanılmaktadır (Gutmann ve ark. 1986).

β -laktam antibiyotik sınıfında olan Tazobaktam Piperasillin akademik çalışmalarda çok sık yer verilen bir antibiyotik olmamıştır. Bu çalışmada 3 (%3,8) olarak elde edilen direnç değeri, bir çalışma ile benzer (Karacı ve ark., 2017), diğer bir çalışmada farklı değerleri içermiştir (Koçak ve ark., 2015). Elde edilen düşük değerlerin ilaç kombinasyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir (Gutmann ve ark., 1986).

Amikasin direnç mekanizmasının, gram negatif bakterilerin integranlarında, transpazonlarında, plazmidlerinde ve kromozomlarında bulunan bir gen tarafından kodlanan bir enzimin asetilasyon oluşturma etkisi ile ilgili olduğu bildirilmiştir. Çoğu aminoglikozitleri değiştirme yeteneğine sahip olan enzimlere karşı dayanıklı olduğu için amikasin, aminoglikozitlere dirençli enfeksiyonları tedavi etmek için başarı ile kullanılmaktadır. Bu sebeple en yaygın olarak kullanılan yarı-sentetik bir aminoglikozittir.

Amikasin için elde edilen 2 (%2,5)'lik direnç değeri, Cebe ve arkadaşları (2008) %3,8, Çoban ve arkadaşları (2014) %3,2, Karacı ve arkadaşları (2017) %3 ve Abdul Raheem ve arkadaşları (2019) %7,7 oranları ile yakınlık gösterirken, %11,5 Çetin ve arkadaşları (2006), %25,7 Koçak ve arkadaşları (2015) ve %25,6 Ghasemi ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan çalışmalarla farklılık göstermektedir. Belirlenen amikasin direnç değerinin düşük olması da aminoglikozitlerin bu mekanizması ile açıklanmaktadır (Ramirez ve Tolmasky, 2017).

Nitrofurantoin direncine, başlıca *nfsA* veya *nfsB* deki mutasyonlar aracılık etmektedir. Her ikisi de yüksek düzeyli nitrofurantoin direncinden sorumlu olan

oksijene duyarsız nitroredüktazları kodlar (Shakti ve Veeraraghavan, 2015). Nitrofurantoin için meydana gelen direncin İYE'ler için seçilen antibiyotiklerden, kullanılan invazif tıbbi cihazlardan, ilaç uygulama prosedürlerinden ve idrar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yine de nitrofurantoin için düşük direnç seviyelerinin olduğu bildirilmektedir (Cassir, Rolain ve Brouqui, 2014; Vervoort ve ark., 2014; Huttner ve ark., 2015).

Nitrofurantoin için elde edilen 2 (%2,5)'lik değer, 6 çalışma ile yakın değerleri ihtiva etmiş (Cebe ve ark., 2008; Çoban ve ark., 2014; Robino ve ark., 2014; Karacı ve ark., 2017; Abdul Raheem ve ark., 2019; Ghasemi ve ark., 2020) ve sadece bir çalışma ile önemli farklılık elde edilmiştir (Koçak ve ark., 2015). Düşük oranda da olsa bu direncin *E. coli* izolatlarının geçirdiği mutasyonlar ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Son zamanlarda çoklu ilaç direnci olan patojenlerde de fosfomisin kullanımına olan ilgi artmış ve parenteral yolla alınması Amerika'da tercih edilmeye başlanmıştır. Komplike olmayan İYE'lerde ise direnç sorunu olmamıştır (Silver, 2017).

Doğal bir antibiyotik olan fosfomisin, İYE'lerin tedavisi için Avrupa, Amerika ve Afrika'da uzun süredir kullanılmaktadır. Oral tedaviye uygun bir antibiyotiktir. Geniş spektrumlu, bakterisidal ve çok düşük toksisiteye sahiptir. Fosfomisine direnç aktif taşıma sistemlerinin özelliklerinin bozulması yoluyla ortaya çıkar. Fakat başlangıçta dirençli organizmaların bu direnci sürdürememesi nedeniyle İYE tedavisinde direnç nadiren görülür (Çoban ve ark., 2014; Karacı ve ark., 2017).

Çalışmada nihai olarak Fosfomisin tüm *E. coli* izolatları, duyarlı olarak bulunmuş, herhangi bir dirençle karşılaşmamıştır. Bu durum diğer çalışmalar ile benzer sonuçları ifade etmektedir.

Sonuç olarak antibiyotik kullanımında en önemli direnç etkenlerinin;

- 1- Daha önceden kullanılan antibiyotiklere süreç içerisinde bakteriyel direnci gelişmesi
- 2- Antibiyotik kullanımındaki sıklık ve düzensiz kullanım
- 3- *E. coli* tarafından üretilen β -laktamaz enzimlerinin oluşturduğu direnç ve bu enzimlerde yer alan direnç genlerini varlığı
- 4- Kültür ve antibiyogram yapılmadan bazı antibiyotiklerin hekimlerce tercih edilmesi

- 5- Birinci basamak tedavilerde aynı antibiyotiklerin kullanımında ısrar edilmesi ve direnç sorunu olmasına rağmen bazı antibiyotiklerin hala kullanımında olması.
- 6- Yakın zamanlarda yapılan bir antibiyotik tedavisi ile yeni gelişen bir hastalığın tedavisi için kullanılan antibiyotiklerin etkileşimi.
- 7- Aminoglikozitler için yapıyı değiştiren genlerin bakteriler tarafından sentezlenmesi
- 8- *nfsA* veya *nfsB*'deki mutasyonlar
- 9- Uygulanan tedavi prosedürleri
- 10- Mutasyona uğrayan bakterileri porin proteini üretim azlığı ve aktif pompalama proteinlerini fazla salgılaması nedeni ile bakterilerin yapısına antibiyotik girişinin engellenmesi
- 11- Yapılan bu çalışmada antibiyotik direnç değerlerinin genelde yüksek olmasının sebebi, kullanılan tüm izolatların GSBL pozitif olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

İstatistiksel değerlendirmede ise Amoxicillin-klavunolic acid, Ampisilin, Sefazolin, Sefepim, Seftazidim, Siprofloksasin, Sefuroksim aksetil, Gentamisin, Levofloksasin ve Trimetoprim-sulfametoksazole antibiyotikleri için direnç ve duyarlılık değerleri açısından anlamlı bir farklılık elde edilmiştir ($p < 0,05$).

Çalışmada antibiyotik direnç ve duyarlılık çalışmalarından sonra GSBL varlığı belirleme işlemleri gerçekleştirilmiştir. İdrar izolatlarında GSBL varlığı iki farklı yolla denenmiştir. Bunlarda birincisi konvansiyonel bir yöntem olan Çift Disk Sinerji Testi, ikincisi ise GSBL pozitifliğinden yaygın olarak sorumlu olan TEM, CTX-M, SHV ve OXA-2 gibi direnç genlerini içeren primerlerin kullanılması ile elde edilen ve PCR ile yapılan görüntüleme yöntemidir.

Çift Disk Sinerji Testine göre GSBL pozitif olarak saptanan 80 *E. coli* izolatının, PCR uygulamaları sonucu 79 tanesinde GSBL varlığı tespit edilmiştir. İki yöntem arasındaki GSBL varlığı tespitinde uyumluluk %98,75 olarak belirlenmiştir.

Direnç genlerinin etki mekanizmalarına bakıldığında TEM ve SHV için yapılan açıklamanın ve etki mekanizmasının benzer olduğu görülmektedir. Başlangıçta izole edilen enzim TEM-1 olarak adlandırılmıştır. Bu enzim kısa sürede yayılma göstermiş ve farklı bakteri sınıflarında etkili olmaya başlamıştır. Geniş

spektrumlu β -laktamazlar olan TEM-1 ve onun farklı varyasyonları olan TEM-2 ile SHV-1, 80'li yılların başına kadar geniş spektrumlu β -laktam grubu antibiyotiklerin maruz kaldığı dirençten sorumlu tutulmuşlardır. SHV-1, *E. coli*'de plazmidik olarak bulunmaktadır. İçerdiği -SH (sülfidril) grubu nedeni ile oldukça reaktif bir enzimdir ve ismi, sulphhydryl variable anlamına geldiği için SHV olarak verilmiştir (Bradford, 2001).

Daha sonraki yıllarda, sıklıkla kullanılan genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlere karşı yeni GSBL türleri keşfedilmiştir ve bunlardan birisi SHV-2 olarak tanımlanan enzim olmuştur (Kliebe ve ark., 1985). Devam eden süreç içerisinde kullanılan her β -laktam antibiyotiğe karşı bakteriler tarafından düzenlenmiş bir β -laktamaz direnci gelişmiştir. Enzimlerde meydana gelen bu sürekli değişim ve artış bakterilerdeki aşırı mutasyon eğilimi ile açıklanmaktadır. Bu mutasyon, DNA tamir ve DNA kopyalarını okuma-doğrulama merkezlerinin inaktive olması ile ortaya çıkmaktadır. Bu sonuca bağlı olarak mutasyona uğrayan bakteri, uğramayan bakterilerden yaklaşık 200 kat daha fazla mutasyon geçirmektedir. Mutasyon geçiren bakteri, etkileşimde bulunacağı antibiyotiğe karşı direnç geliştirmeye hazır hale gelmektedir (Bal, 2003).

Mutasyon geçiren bakteriler, sefalosporinleri hidroliz etmek suretiyle direnç geliştirirler. Bu hidroliz oranı baştan düşük olmasına karşın, bir sonraki mutasyon sonucu ortaya çıkan enzimin hidroliz etme kapasitesi daha yüksektir. Bu durumda başlangıçta bir tane olan enzim aktivitesi yeni enzimlerin oluşması ile çoklu enzim direncine sebep olur ve genişletilmiş etki yapar. Mutasyonlar bir yandan enzim üretiminde genişleme etkisini ortaya koyarken diğer yandan da porin proteinlerinin üretiminde azalmaya neden olur. Bu azalma ile antibiyotiklerin hücreye girişi azalır ya da aktif pompalama yapan proteinlerin aşırı üretilmesi ile antibiyotikler hücre dışına itilir. Bu etkiye bağlı olarak hücre içerisindeki antibiyotik konsantrasyonunda düşüş gözlenir. Hem β -laktamaz üretimi hem de porin azalması birlikte olursa antibiyotiğe karşı direnç daha da artmaktadır (Bush, 2001).

GSBL enzimi üreten direnç genlerinin büyük çoğunluğu TEM ve SHV grubunda yer alırken, geriye kalanlar CTX-M ve OXA grubuna ait geniş spektrumlu β -laktamaz üreticileridir. TEM ve SHV grubundan daha az tür çeşidine sahiptirler. CTX-M ve OXA grubunda yer alan enzimler penisilin, sefalosporin, monobaktamların

çoğunu inaktive etmektedir. CTX-M sıklıkla *E. coli*'de ve *Salmonella typhimurium*'da rastlanan bir enzimdir. Etkisini hidrolizleme ile göstermektedir. Plazmidik bir GSBL grubunu temsil eder. Bilinen farklı türünün olması, hızla mutasyona uğraması ile açıklanmaktadır. Ortaya çıkardığı direnç etkisinin de farklı türlerinin oluşturduğu genişletilmiş β -laktamaz üretimi ile ilgili olduğu belirtilmiştir (Bauernfeind, Grimm ve Schweighart, 1990; Bauernfeind ve ark., 1996).

OXA grubu virülens genlerinin oluşturduğu direnç etkisinin düşük olması ise OXA grubuna ait enzimlerin GSBL üreten grupları olduğu gibi üretmeyen gruplarının da olması ile açıklanmaktadır. Genelde OXA enzimlerinin ampisilin, sefalotin, oksasilin ve kloksasiline gibi antibiyotiklere dirençli olduğu görülür. Sınırlı sayıda antibiyotiğe olan direnç durumunun genele yansıyan oranı da doğal olarak düşük seyretmektedir (Bush ve Jacoby, 1995; Bradford, 2001).

Elde edilen sonuçlar yakın zamanlardaki benzer çalışmalar ile bir tablo olarak karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 21'de verilmiştir.

Tablo 21. Direnç Genlerine İlişkin Bulguların Literatürdeki Benzer Çalışmalar ile Karşılaştırılması

	Alkan, 2021 (%)	Görgeç, 2012 (%)	Goudarzi ve ark., 2013 (%)	Roschanski, 2014 (%)	Memariani ve ark., 2015 (%)	Eltai ve ark., 2017 (%)	Ejaz, 2020 (%)
TEM	86,3	59,2	69	40	19	2,7	51,4
CTX-M	25	89,2	74	80	-	89,2	78,4
SHV	48,8	11,8	0	16	40,5	0,9	71,6
OXA-2	10	15,8	-	-	-	-	-

Görgeç, 2012; Goudarzi ve ark., 2013; Roschanski ve ark., 2014; Memariani ve ark., 2015; Eltai ve ark., 2017; Ejaz, 2020

PCR çalışmalarında 80 farklı GSBL pozitif idrar izolatinin 69 tanesinin (%86,3)TEM direnç genini içerdiği sonucuna varılmıştır. Bunu, 39 idrar izolatu ile SHV direnç geni ve 20 izolatla CTX-M direnç geni takip etmiştir. En az olarak OXA-2 genine, 8 idrar izolatında rastlanmıştır.

Yapılan çalışmaların çoğunda (Tablo 16) idrar örneklerinde en sık rastlanılan direnç geninin CTX-M olduğunu ifade edilmiştir (Görgeç, 2012; Goudarzi ve ark.,

2013; Roschanski ve ark., 2014; Eltai ve ark., 2017; Ejaz, 2020). Bir çalışmada ise SHV en sık rastlanılan direnç geni olarak belirlenmiştir (Memariani ve ark., 2015). Bu açıdan bakıldığında literatürdeki çalışmalar ile bu çalışma arasında sıralama farklılığı tespit edilmiştir.

TEM direnç genine bağlı olarak elde edilen sonuçlar dikkate alındığında bu çalışma ile yakın bir değer Goudarzi ve arkadaşları (2013) tarafından elde edilmiştir. Diğer çalışmaların sonuçları oran olarak bu çalışma ile benzerlik göstermemektedir (Görgeç, 2012; Roschanski ve ark., 2014; Memariani ve ark., 2015; Eltai ve ark., 2017; Ejaz, 2020). Bu çalışmada CTX-M direnç genlerine ait elde edilen 20 (%25)'lik veri incelenen akademik çalışmalarla benzerlik göstermemektedir (Görgeç, 2012; Goudarzi ve ark., 2013; Roschanski ve ark., 2014; Eltai ve ark., 2017; Ejaz, 2020).

Oldukça değişken oranların elde edildiği direnç geni olarak SHV göze çarpmaktadır. Zira yapılan çalışmalarda %71,6'i bulan oranlara bakıldığında bu farklılık açıkça görülmektedir. Bu çalışmada elde edilen %48,8'lik oran Memariani ve arkadaşları (2015) ile benzerlik gösterirken, diğer çalışmalarla farklılık içermektedir (Görgeç, 2012; Goudarzi ve ark., 2013; Roschanski ve ark., 2014; Eltai ve ark., 2017; Ejaz, 2020).

Çocuk idrar izolatlarının direnç genlerini inceleyen çalışmalarda en az çalışılan direnç geni olarak OXA grubu direnç genleri gözükmektedir. Bu çalışmada OXA-2 direnç geni araştırılmış ve 8 (%10) adet idrar izolatında varlığı belirlenmiştir. Bu çalışma Görgeç (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Yapılan çalışmada meydana gelen TEM ve SHV direncinin de bu mekanizma ile oluştuğu düşünülmektedir. Daha önceden kullanılan antibiyotiklere karşı olan direncin, *E. coli*'nin geçirdiği mutasyon sonucu genişletilmiş β -laktamaz üretimi ile dirence dönüşümü ve porin proteinlerinde artış sağlaması nedeniyle yüksek direnç oluştuğu düşünülmektedir (Bush, 2001).

Yapılan bir araştırmada elde edilen *E. coli* izolatının TEM-1 enzimi ürettiği belirlenmiştir. Bu enfeksiyonun tedavisinde kullanılan sefalosporinlerin tedavi esansında SHV-1 direnci ile karşılaştığı ve diğer sefalosporinlere karşı da direnç geliştiği gözlenmiştir. SHV-1, anında gelişen bir mutasyonla SHV-8 enzimini üretmiş ve farklı bakteri türleri olan sefamisinlere karşı dirençli hale gelmiştir. Bütün bu

dönüşümler 3 ay gibi kısa bir sürede tespit edilmiştir (Rasheed ve ark., 1997). Kısa sürede gerçekleşen bu değişiklik, antibiyotik dirençlerinde oranların hızlı değişikliğini de ortaya çıkarmaktadır.

Sonuç olarak, direnç genlerine ilişkin sonuçlar incelendiğinde belirli bir direnç geni sıralaması elde edilememiştir. Bazı çalışmalarda CTX-M geni ilk sıralarda yer alırken, bazı çalışmalarda ilk sırayı SHV temsil etmiştir. Farklı çalışmalarda aynı direnç genine ait değerlerin çok farklı olabilmesi, oransal bir sıralamanın yapılmasını mümkün kılmamıştır.

5. 3. Araştırmanın Virülens Genlerinin Varlığına İlişkin Sonuçlar

E. coli birçok mekanizma ile hastalık yapabilen bir patojen olarak literatürdeki yerini almıştır (Johnson ve ark., 2003). *E. coli* izolatları içerisinde çok sayıda virülens gen bulunmasına karşın sıklıkla rastlanan virülens genleri olarak *pap*, *sfa*, *cnf*, *aer* ve *hly* belirlenmiştir.

E. coli'ler *pap* ve *sfa* virülens genleri aracılığıyla kodlanan fimbriyalar ile virülens etkilerini göstermektedir. P fimbriyalar, *pap* virülens geni aracılığıyla kodlanırken, S fimbriyalar *sfa* virülens geni aracılığıyla kodlanmaktadır. Farklı çalışmalarda farklı oranlarda virülens değerlerin elde edilmesi fimbriya sayılarının farklı olması ile açıklanmaktadır. Fimbriya sayıları düşük olduğunda mukozal yüzeylere tutunma ihtimalleri de o düzeyde düşük seyretmektedir (Jann ve Jann, 1977).

hly virülens geni ise hemolizin üretiminden sorumludur. Alfa hemolizin ve beta hemolizin gibi farklı toksik etkisi olan türleri vardır. Hemolizin üretilmesi için 4 farklı genin varlığı gerekmektedir. Bunlar *hlyA*, *hlyB*, *hlyC* ve *hlyD*'dir. Çalışmalarda elde edilen farklı değerlerin bu 4 farklı genden hepsinin ortamda bulunmaması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Sussman, 1997).

aer virülens geni ise aerobaktin üretmek sureti ile etkisini göstermektedir. İki adet lizin ve bir adet sitrat molekülünden oluşan bu molekül *E. coli*'nin demirin az bulunduğu bölgelere bağlanabilmesini sağlamaktadır. Çalışmalarda farklı verilerin elde edilmesinin nedeni konaktaki hücrelerin demir bulundurma kapasitesi ile ilişkilendirilmektedir (Vanessa ve Carlyn, 2015).

cnf virülens faktörü de toksin üretimi üzerinden patojenik etkisini gösteren bir genidir. Ürettiği *cnf-1* özellikle İYE'lerden sorumlu tutulmaktadır. Konak hücrelerindeki fonksiyonların inaktive edilmesi, morfolojik yapıda deformasyonlar sağlaması ve hücre yenilenmesi mekanizmasını durdurması şeklinde etkiler ortaya koymaktadır. Hücre zarını parçalayarak toksinin içeri girişini kolaylaştırır. Araştırmalarda meydana gelen farklı değerlerin oluşan toksin miktarı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Sussman, 1997).

Elde edilen verilerin konuya ilişkin bazı bilimsel çalışmalar ile karşılaştırılmasından elde edilen sonuçlar Tablo 22'de verilmiştir.

Tablo 22. Virülens genlerine ilişkin bulguların bazı bilimsel çalışmalarla karşılaştırılması

	Alkan 2021 (%)	Farshad ve Emamghorashi 2009 (%)	Tarchouna ve ark. 2013 (%)	Yılmaz ve ark., 2017 (%)
<i>pap</i>	43,8	66,7	67	64
<i>sfa</i>	11,3	62,5	57	15
<i>cnf</i>	18,8	63,6	3	20
<i>aer</i>	51,2	-	80	55
<i>hly</i>	11,3	85,7	30	17

Farshad ve Emamghorashi, 2009; Tarchouna ve ark., 2013; Yılmaz ve ark., 2017

Bu araştırmada incelenen 80 izolatin 41'inde (%51,2) en sık olarak rastlanan virülens gen *aer* olmuştur. Bunu 35 idrar izolatu ile *pap* geni (%41,8) ve 15 idrar izolatu ile (%18,8) *cnf* izlemiştir. *cfa* ve *hly* genlerinin bulunma sıklığı ise 9 (% 11,3) olarak belirlenmiştir.

Virülens genlere ilişkin yapılan karşılaştırmada *pap* virülens geni için elde edilen değer diğer araştırmalardan farklılık göstermektedir (Farshad ve Emamghorashi, 2009; Tarchouna ve ark., 2013; Yılmaz ve ark., 2017). *sfa* Virülens geninde ise Yılmaz ve arkadaşları (2017) tarafından elde edilen değere yakın bir oran elde edilmiştir. Elde edilen bu değerler diğer iki çalışma ile oldukça farklıdır (Farshad ve Emamghorashi, 2009; Tarchouna ve ark., 2013). *cnf* virülens geni için bu çalışmadan elde edilen değer de Yılmaz ve arkadaşları (2017) ile benzerlik göstermektedir. Diğer iki çalışmanın birisinde Tarchouna ve arkadaşları (2013)

%3'lük çok düşük bir oran elde ederken, diğerinde Farshad ve Emamghorashim (2009) %63,6'lık değer elde etmiştir.

Benzer bir sonuç ise *aer* virülens geni çalışmalarından sağlanmıştır. Yine Yılmaz ve arkadaşları (2017) ile çok yakın sonuçlar elde edilirken, Tarchouna ve arkadaşları (2013) tarafından %80'lik yüksek bir değer elde edilmiştir. *hly* virülens genindeki benzerlik de Yılmaz ve arkadaşlarının (2017) çalışması ile uyumludur. Tarchouna ve arkadaşları (2013) tarafından elde edilen %30'luk değer ve Farshad ve Emamghorashi (2009) tarafından elde edilen %85,7'lik değer elde edilen veriler arasında farklılaşma olabileceği yönünde değerlendirilmiştir.

Virülens genlerin bir bütün olarak değerlendirilmesi sonucunda, virülens genlerinin incelendiği farklı çalışmalarda farklı oranların elde edildiği gözlemlenmiştir. Bu durum direnç genlerinde olduğu gibi virülens genlerinde de sıralamanın bir düzene göre olamayacağı yönünde algılanmaktadır. Zira, *E. coli* izolatlarının içerdiği fimbriya sayısı, hemolizin üreten gen sayısı, konak hücredeki demir miktarı ve konak hücredeki fonksiyonların inaktive edilmesi gibi etkenler her bakteride farklılık göstermektedir (Jann ve Jann, 1977; Sussman, 1997; Vanessa ve Carlyn, 2015).

5. 4. Araştırmanın Filogenetik Tiplendirme Çalışmalarına İlişkin Sonuçlar

Bilimsel çalışmalara bakıldığında A ve B1 filogenetik sınıfına ait *E. coli*'lerin genellikle gastrointestinal sistemden izole edildiği belirlenmiştir. Bazı çalışmalarda B2 sınıfına ait gastrointestinal sistem izolatu olan *E. coli*'ye hiç rastlanmamıştır (Oscar ve ark., 2010). Yapılan diğer bir çalışmada, idrar ve dışkıdan izole edilen *E. coli* izolatlarından elde edilen A ve B1 sınıfı *E. coli* filogenetik tiplerin çoğunlukta olduğu belirtilmektedir (Navidinia ve ark., 2014).

Filogenetik tiplendirmeye özgü çalışmalarda durumun irdelenmesi amacıyla farklı çalışmalar incelenmiş ve bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırmayı içeren bilgiler Tablo 23'de verilmiştir.

Tablo 23. Filogenetik tiplendirme sonuçlarına ilişkin bulguların benzer bilimsel çalışmalar ile karşılaştırılması

Filogenetik Tip	Alkan 2021	Clermonth ve ark., 2000	Robino ve ark., 2014	Kongur 2017	Logan ve ark., 2021
A	8,8	18,7	10,9	24	8
B1	18,8	10	5,5	4	8
B2	63,7	49,1	35,4	43	67
D	8,8	22,2	48,2	29	17

Clermonth ve ark., 2000; Robino ve ark., 2014; Kongur, 2017; Logan ve ark., 2021

E. coli kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarına ait 80 idrar izolatının filogenetik sınıflandırması Clermonth ve arkadaşları (2000) tarafından hazırlanan tabloya göre gerçekleştirilmiş ve en çok örneğin B2 (%63,7) sınıfına ait olduğu sonucu elde edilmiştir. B1 grubundaki örnek sayısı %18,8 ile ikinci sırayı alırken, A ve D grubu *E. coli* tiplerinin sayısı eşit dağılım göstermiş ve %8,8'lik oranda olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada A sınıfı filogenetik tipe sahip olanların oranı %8,8'dir. İncelenen diğer çalışmalara bakıldığında, diğer çalışmalarla yakın değerlerin elde edildiği görülmektedir (Clermonth ve ark., 2000; Robino ve ark., 2014; Kongur, 2017; Logan ve ark., 2021). B1 filogenetik tiplendirmesinde ise tüm çalışmalarla yakınlık gösterdiği tutarlı bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

En yüksek dağılımın gözlemlendiği filogenetik tip yapılan tez çalışmasında B2, 51 (%63,7) olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Logan ve arkadaşları (2021) ile çok yakın değerler ifade ederken, diğer 3 çalışma ile farklı değerleri ihtiva etmiştir (Clermonth ve ark., 2000; Robino ve ark., 2014; Kongur, 2017). Filogenetik sınıflandırmada D sınıfına ilişkin elde edilen çalışma verileri 7 (%8,8), diğer çalışmalar ile farklılık arz etmektedir (Clermonth ve ark., 2000; Robino ve ark., 2014; Kongur, 2017; Logan ve ark., 2021).

İdrar ve dışkı örneklerinin birlikte değerlendirildiği filogenetik çalışmalarda, idrar yolu enfeksiyonuna sebep olan üropatojenik *E. coli*'lerde B2 ve D filogenetik grubunun daha fazla olduğu, gastrointestinal sistem bağlantılı enfeksiyonlarda ise A ve B1 grubunun daha fazla olduğu görülmüştür (Houdouin ve ark., 2007; Koljalget ve ark., 2014; Navidinia ve ark., 2014). Yapılan bilimsel çalışmalarla karşılaştırıldığında bu çalışmada da B2 filogenetik grubun diğer gruplara göre daha fazla sayıda olduğu ve diğer çalışmalarla uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

5. 5. Araştırmanın İstatistiksel Çalışmalarına İlişkin Sonuçlar

Çalışmanın istatistiksel inceleme kısmında direnç genlerinin pozitifliği ve negatifliğinin arasındaki sayısal değerler hesaplanmıştır. Buna ilave olarak incelenen idrar izolatlarının ait olduğu filogenetik gruplar arasındaki sayısal değerlendirmeler istatistiksel hesaplama tabii tutulmuştur. Nihai olarak ise seçilen virülens genlerinin varlığına ilişkin sayısal değerler arasındaki istatistiksel değerlendirmeye yer verilmiştir.

Bu çalışmaların deneysel istatistiklerine ilave olarak, demografik değişkenler olan cinsiyet ve yaş aralıkları ile direnç genlerinin, filogenetik tiplendirmenin ve virülens genlerinin varlığı arasındaki istatistiksel ilişkilendirmeye yer verilmiştir.

İlk aşamada cinsiyet ve direnç genlerinin varlığı arasındaki ilişki irdelenmiştir. Yapılan istatistiksel inceleme sonucunda sadece SVH direnç geni için kız ve erkek çocukları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer direnç genleri olan TEM, CTX-M ve OXA-2 için anlamlı bir fark elde edilememiştir.

Diğer yandan yaş aralıkları ayrı ayrı TEM, CTX-M, SHV ve OXA-2 ile istatistiksel olarak test edilmiş ve hiçbir direnç geni için yaş aralığının anlamlı bir fark teşkil etmediği sonucu ortaya çıkmıştır.

Çalışmada yaş aralıkları ile direnç genlerinin bulunma sıklığı arasında anlamlı bir fark çıkmamış olması literatürdeki örnek çalışmalar ile kıyaslanmış ve Eltai ve arkadaşları (2018) bu değişkenler arasında anlamlı bir fark elde etmişlerdir.

Virülens genlerinin varlığı ile yaş aralığı ve cinsiyet değişkeni arasında anlamlı bir fark elde edilememiştir. Oysa, Kongur (2017) cinsiyet ile virülens gen bulundurma sıklığı arasında anlamlı bir farklılık bulmuştur ($p = 0,031$). Diğer yandan Farshad ve Emamghorashi (2009) ise 36 ay öncesi ve 36 ay sonrası çocukların idrar örneklerinde bulunan virülens genlerinin sayıları ile yaş aralıkları arasında anlamlı bir farklılık tespit etmişlerdir. Filogenetik tiplendirme çalışmalarında da gruplar arasında cinsiyet ve yaş aralığı bakımından anlamlı farklılık bulunamamıştır.

Yakın zamanlarda çocuklarda *E. coli* kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarına ait birçok kaynak taranmasına rağmen yapılan istatistiksel çalışmalar sınırlı sayıda yer almaktadır. Yapılan istatistiksel çalışmaların ise birçoğu, değişkenlerin veya araştırılanların kendi içerisinde test edildiği çalışmalardır. Örneğin; hasta çocukların kız/erkek oranı, elde edilen numunelerin GSBL pozitif/GSBL negatif oranı ya da

filogenetik sınıflandırması yapılanlardan A grubunun B2 grubuna oranlanması türündeki istatistiksel hesaplamalar sıklıkla mevcut olmasına rağmen (Kongur, 2017), demografik değişkenler ile direnç genlerinin, virülens genlerin ya da filogenetik tiplerin sayıları arasında istatistiksel bir karşılaştırma içeren çalışmalara çok zor rastlanmaktadır.

Bundan hareketle yapılan istatistiksel çalışmaların daha sonraki araştırmalarda istatistiksel olarak rehber olacağı ve günümüz verilerini belli bir ölçekte yansıtacağı düşünülmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İdrar yolu enfeksiyonlarının özellikle çocuklarda yaygın bir enfeksiyon türü olarak ortaya çıkan ve daha ziyade kız çocuklarında yaygınlık gösteren bir enfeksiyon konumunda olduğu bu çalışma ile de desteklenmiştir. Çalışma sonucunda izole edilen GSBL dirençli *E. coli* izolatlarının farklı direnç genlerini değişik oranlarda taşıdığı, bu idrar izolatlarının değişik filogenetik gruplarda olduğu ve farklı virülens genlerini içerdiği belirlenmiştir.

Konuyla ilgili bilimsel kaynaklardan ve bu çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda aşağıda belirtilen sonuç ve önerilere varılmıştır;

1- Araştırmada 80 GSBL pozitif *E. coli* izolatı ile çalışılmıştır. Araştırmanın farklı coğrafi alanlarda yapılması, daha geniş bir coğrafyaya yayılması bölgesel verilerin elde edilmesine ışık tutacak ve alınacak önlemleri daha geniş perspektifte ortaya koyacaktır.

2- İzole edilen 80 *E. coli* izolatı, bir yıl boyunca çocuklardan alınan idrar örneklerinden elde edilmiştir. COVID-19 pandemisi nedeniyle yapılması düşünülen, mevsimsel veya aylara göre karşılaştırma verilerini sunmak için yeterli veri elde edilememiştir. Bu nedenle daha uygun koşullarda daha geniş bir zaman diliminde çalışmanın daha fazla örnekle yapılması, bu tür karşılaştırmaların yapılmasına olanak sağlayacaktır.

3- Doğru antibiyotik kullanımı deneysel verileri gerektirmektedir. *E. coli* kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde, antibiyogram testi sonuçlarına göre antibiyotik kullanımı ilke haline gelmelidir.

4- Dirençli ve yüksek virülensa sahip suşların yayılımını engellemek için hem hastane ortamlarında hem de hastanın ikamet ettiği mekânda alınacak izolasyon ve hijyen tedbirlerine mutlaka dikkat edilmesi gerekmektedir.

5- Virülens genlerinin incelenmesinde farklı virülens özellikleri taşıyan genlerin seçilmesi daha detaylı tanımlamaların ve konunun aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

6- Antibiyotik kullanımında düzensizlik ya da gereksiz sıklık dirençlerin gelişmesine sebep olacaktır. Bu nedenle antibiyotik kullanımında gelişmiş güzel antibiyotik kullanımının önüne geçilmesi acilen sağlanması gereken bir tedbirdir.

7- Bölgesel anlamda ortaya çıkan *E. coli* suşlarının direnç ve virülens özelliklerinin doğru tanımlanması ve doğru tedavinin önerilmesi hem morbiditeyi hem de mortaliteyi düşürecektir. Bu belirleme aynı zamanda tedavi maliyetlerinin de daha düşük miktarlara çekilmesi sonucunu doğuracaktır.

8- Hekimlerin *E. coli* kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik önermeleri aşamasında daha önceden kullanılan ilaç reçetelerini dijital sistemlerden kontrol etmesi ve buna bağlı olarak ilaç kullanımını sağlaması daha doğru bir davranış olacaktır.

Sonuç olarak bu çalışmada İYE şikayetiyle hastaneye başvuran çocuk hastalardan izole edilen *E. coli* izolatlarının sıklığı, antibiyotik duyarlılıkları, GSBL direnç profilleri, virülens genlerinin sıklığı ve filogenetik grupları araştırılıp değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın bölgede ve ülkemizde yapılacak yeni çalışmalara temel oluşturup yol göstermesi beklenmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abdul Raheem RS, Hussein MA, Al-Din NI: Causative organism of urinary tract infection and drug resistance in children at child's Central Teaching Hospital in Baghdad City. The 14th Scientific International Conference, Vol. 69, No. 8, August 2019.
- Abrahamsson K, Hansson S, Jodal U, Lincoln K: *Staphylococcus saprophyticus* urinary tract infections in children. European journal of pediatrics, 152(1):69-71, 1993.
- Adjei O, Opoku C: Urinary tract infections in African infants. Int J Antimicrob Agents, 24 Suppl. 1: 32-34, 2004.
- Akkurt D: Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu olan çocukların kolon mikrobiyotasında yüksek virulans özelliğine sahip *Escherichia coli* izolatlarının değerlendirilmesi. Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2018.
- Alon USA ST: Urolithiasis. **In:** Kher KKVSH, Makker SP, eds: Clinical Pediatric Nephrology. 2th Ed. India: Informa UK Ltd. 539-552. 2007.
- Arda M: Temel mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi, 4. Baskı, Ankara, 2011.
- Arıkan S: Bakteriye gastroenteritte antibiyotik. Mikrobiyoloji Bülteni, 26:284-296. 1992.
- Arlet G, Brami G, Decre D, Flippo A, Gaillot O, Lagrange PH, Philippon A: Molecular characterisation by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM β -lactamases. FEMS Microbiol Lett. 134(2-3), 203-8, 1995.
- Arlet G, Rouveau M, Philippon A: Substitution of alanine for aspartate at position 179 in the SHV-6 extended-spectrum -lactamase. FEMS Microbiol Lett, 152, 163-167, 1997.
- Arman DÇ: Çocukluk çağı üriner sistem enfeksiyonlarına yol açan etkenlerin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. Sağlık Bakanlığı Zeynep Kâmil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2008.
- Arslan Aİ: İdrar yolları enfeksiyonu Etkeni *E. Coli*'lerin adezinleri ile antibiyotik direnci arasındaki ilişkinin klasik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 2010.
- Arslan D: İshal oluşturan *Escherichia coli* enfeksiyonları: Epidemiyoloji, klinik, tedavi. Ankem Derg, 22 (Ek 2):192-196, 2008.
- Ateş A: Üriner ve solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen E. Coli ve klebsiella izolatlarında bazı virülens genleri ile antibiyotik direnç genlerinin sıklığı. Mustafa Kemal Üniversitesi, Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Hatay, 2019.
- Bal Ç: Beta-Laktamazlar: Güncel Durum. Flora, 8(2):111-123, 2003.
- Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S: A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*, Infection, 18:294-298, 1990.
- Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Ernst S, Casellas JM: Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother, 40:509-13, 1996.
- Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB: Nelson textbook of pediatrics. 16th ed. WB Saunders Company, 546:1621-1625, 2000.

- Bekal S, Brousseau R, Masson L, Prefontaine, G: Rapid identification of *E. coli* pathotypes by irulence gene detection with DNA Microarrays. *Journal of Clinical Microbiology*, 2113-2125, 2003.
- Bensman A, Dunand O, Ulinski T: Urinary tract infections. **In:** Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N, (eds): *Pediatric Nephrology*, 1299-1310, 2009.
- Berkiten R: *Escherichia*. **İçinde:** Bozkaya E (ed): *Tıbbi Mikrobiyoloji 2*. 2. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, s. 65-69, 2005.
- Bettelheim KA, Breadon A, Faiers MC, O'Farrell SM, Shooter RA: The origin of O serotypes of *Escherichia coli* in babies after normal delivery. *J. Hyg (Lond)*, 72, 67-70, 1974.
- Bien J, Sokolova O, Bozko P: Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage, *International journal of nephrology*, 2012.
- Bilgehan H: "*Escherichia*" Özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları, Barış Yayınları, 10. Baskı, 3-17, 2000.
- Bilgehan H: Temel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi kitabı: Bağışık yanıt ve temelleri, 10. Baskı, Barış Yayınları, İzmir, 303-317, 2002.
- Bingen EH, Denamur E, Elion J: Use of ribotyping in epidemiological surveillance of nosocomial outbreaks. *Clinical Microbiology Reviews*, 7: 311-317, 1994.
- Biol L: İdrar yolları-böbrek hastalıkları tedavisi ve hemşirelik bakımı. **İçinde:** İç hastalıkları ve hemşirelik bakımı. 1. Baskı. Vehbi Koç Vakfı Sanerc Yayın. No:2, İstanbul, 2003.
- Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, Blanco J: Virulence factors and O groups of *Escherichia coli* strains isolated from cultures of blood specimens from urosepsis and non-urosepsis patients. *Microbiologia*, 10(3), 249-256, 1994.
- Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, Blanco J: Virulence factors and O groups of *Escherichia coli* isolates from patients with acute pyelonephritis, cystitis and asymptomatic bacteriuria. *Eur. J. Epidemiol*, 12(2), 191-198, 1996.
- Blount ZD: The natural history of model organisms: The unexhausted potential of *E. coli*. *eLIFE*, 4, e05826, 2015.
- Bonnet R: Growing group of extended-spectrum β -Lactamases: the CTXM Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 1-14, 2004.
- Bouallègue O, Saidani M, Ben Mohamed S, Mzoughi R: Bacteriologic features of urinary tract infections in children in the Sousse area, Tunisia. *Tunis Med*, 82: 742-746, 2004.
- Bradford PA: Extended spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*, 14(4), 933-951, 2001.
- Bratslavsky G, Feustel PJ, Aslan AR, Kogan BA: Recurrence risk in infants with urinary tract infections and a negative radiographic evaluation. *J Urol*, 172(4):1610-1613, 2004.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. (eds): Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology. 22nd Ed Newyork: McGraw-Hill. 146. (2001).
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA: Enteric gram-negative rods. **In:** Brooks GF, Butel JS, Morse SA (eds) Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 23rd ed. McGraw-Hill companies, Boston, 248-260, 2004.

- Burdet C, Clermont O, Bonacorsi S, Laouénan C, Bingen E, Aujard Y, Mentré F, Lefort A, Denamur E: *Escherichia coli* Bacteremia in children age and portal of entry are the main predictors of severity. The Pediatric Infectious Disease Journal, Volume 33, Number 8:872-879, 2014.
- Bush K and Jacoby GA: Updated functional classification of β -Lactamases. Minireview. Antimicrob Agents Chemother, 54(3): 969–976, 2010.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA: A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother, 39:1211-1233, 1995.
- Bush K: New beta-lactamases in gram-negative bacteria: Diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis, 32:1085-1089, 2001.
- Bush K: β -Lactamase inhibitors from laboratory to clinic. Clin. Microbiol. Rev, 1:109–123,1988.
- Büyüköztürk Ş: Veri Analizi El Kitabı, PegemA Yayıncılık, Ankara, 140-142, 2004.
- Cassir N, Rolain J-M, Brouqui P: A new strategy to fight antimicrobial resistance: The revival of old antibiotics, 5:551, 2014.
- Cattell WR: Host factors in the pathogenesis of urinary tract infection. **In:** Davison A, Grünfeld JP, Kerr DNS, Ritz E, Winerals CG: (eds). Oxford textbook of clinical nephrology. 2th edition. New York, Oxford University Press, 1231-1240, 1998.
- Cebe A, Ayvaz A, Yıldız N, Çetinkaya S: Sivas ilinde çocukluk çağı idrar yolu enfeksiyonlarında idrar kültür sonuçları: İlk tedavi seçimi nasıl olmalıdır? Van Tıp Dergisi, 15(1): 7-12, 2008.
- Cesur S, Demiröz AP: Antibiotics and the mechanisms of resistance to antibiotics. Med J Islamic World Acad Sci, 21(4): 138-142, 2013.
- Chang SL, Shortliffe LD: Pediatric urinary tract infections. Pediatr Clin, 53(3): 379-400, 2006.
- Chaturvedi KS, Hung CS: The siderophore *Yersinia bacterin* binds copper to protect pathogens during infection. Nature chemical biology, 8, 731-736, 2012.
- Cheng CH, Tsai MH, Huang YC, Su LH, Tsau YK, Lin CJ, Chiu CH, Lin TZ: Antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in children with vesicoureteralreflux receiving prophylactic antibiotic therapy. Pediatrics, 122:1212-1217, 2008.
- Choi UY, Han SB, Lee SY, Kang JH, Kim SM, Ma SH, Regional differences in phylogenetic group of *Escherichia coli* strains isolated from children with urinary tract infection in Korea. Korean J Pediatr, 55(11):420-423, 2012.
- Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E: Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. Appl Environ Microbiol, 66: 4555-4558, 2000.
- Clermont O, Christenson J K, Denamur E, Gordon D M: The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylogroups. Environmental Microbiology Reports, 5(1), 58–65, 2013.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): M100-S23—Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-third informational supplement. CLSI, Wayne, Pennsylvania, 2013.
- Colle JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A (eds): Mackie and McCartney practical medical microbiology, 14th ed. Churchill Livingstone, Newyork. 363-367, 199).

- Çetin H, Öktem F, Örmeci AR, Yorgancıgil B, Yaylı G: Çocukluk çağı idrar yolu enfeksiyonlarında *Escherichia coli* ve antibiyotik direnci. SDÜ. Tıp Fak Derg, 13(2), 12-16, 2006.
- Çoban B, Ülkü N, Kaplan H, Topal B, Erdoğan H, Baskın E: Çocuklarda idrar yolu enfeksiyonu etkenleri ve antibiyotik dirençlerinin beş yıllık değerlendirmesi. Türk Ped Arş, 49: 124-129, 2014.
- Daegelen P, Studier FW, Lenski RE, Cure S, Kim JF: Tracing ancestors and relatives of *Escherichia coli* B, and the derivation of B strains REL606 and BL21 (DE3). Journal of Molecular Biology, 394(4), 634-643, 2009.
- Dağlar D, Öngüt G: Genişlemiş spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL) ve tanı yöntemleri. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 1, 1-9, 2012.
- Davis NF, Flood HD: The pathogenesis of urinary tract infections. Clinical management of complicated urinary tract infection. InTech, 101-120, 2011.
- Demir N: Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) üretimine katkıda bulunan çeşitli risk faktörlerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006.
- Deniz S: Kars yöresinde insanlarda üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia Coli* ve *Klebsiella Pneumoniae* suşlarında CTX-M, TEM ve SHV tipi genişlemiş spektrumlu Beta-Laktamaz aktivitesinin moleküler yöntemlerle araştırılması. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2020.
- Dieckhaus KD: Urinary Tract Infections. **In:** Grace C: Medical management of infectious disease, 289-291, 2003.
- Dobrindt U, Blum-Oehler G, Hartsch T: S-Fimbria-encoding determinant *sfai* is located on pathogenicity island III₅₃₆ of uropathogenic *Escherichia coli* strain 536. Infection And Immunity, 4248-4256, 2001.
- Dolapçı İ: Bakterilerde izolasyon, tanı ve identifikasyon yöntemleri, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji, AD (ders notu), Şubat, 2016.
- Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V: Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. Clin Microbiol Infect, 14, 90-103, 2008.
- Ebrsprächer B, Hugo F, Bhakdi S: Quantitative study of the binding and hemolytic efficiency of *Escherichia coli* hemolysin. Infection and Immunity, 57: 983-988, 1989.
- Edberg SC, Trepeta RW: Rapid and economical identification and antimicrobial susceptibility test methodology for urinary tract pathogens. J Clin Microbiol, 18: 1287-1291, 1983.
- Edelmann CM, Ogwo JE, Fine BP, Martinez AB: The prevalence of bacteriuria in full-term and premature newborn infants. The Journal of pediatrics, 82(1):125-132, 1973.
- Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Strachounski L: Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. Antimicrob Chemother Agent, 47, 3724-3732, 2003.
- Ederer GM, Clark M: Motility-indole-ornithine medium. Appl. Microbiol, 2:849-850, 1970.
- Edlin RS, Shapiro DJ, Hersh AL, Copp HL: Antibiotic resistance patterns of outpatient pediatric urinary tract infections. J Urol, 190(1):222-227, 2013.
- EFSA: Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food producing animals. EFSA Journal, 9, 2322-2417, 2011.

Einstein BI, Zalesnik D F: *Enterobacteriaceae*. **In:** Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds): Mandell, Douglas and Bennett's principles on practice of infectious diseases, 5th ed. Churchill Livingstone, 2294–2301, 2000.

Ejaz H: Dissemination of SHV, TEM and CTX-M genotypes in *Pseudomonas aeruginosa*: A Pre-eminent reason for therapeutic failure in pediatrics. Annals of Clinical & Laboratory Science, vol. 50, no. 6, 2020.

Ejrnaes K: Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. Danish Medical Bulletin, 58(4); B4187, 2011.

Elder JS: Urinary tract infections. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds): Nelson textbook of pediatrics 20th ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 2556-2562, 2016.

Eltai NO, Al Thani AA. Al-Ansari K, Deshmukh AS, Wehedy E, Al-Hadidi SH, Yassine HM: Molecular characterization of extended spectrum β -lactamases enterobacteriaceae causing lower urinary tract infection among pediatric population. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 7, 90, 2018.

Emre S: Üriner sistem enfeksiyonları. **In:** Neyzi O, Ertuğrul T: Pediatri II (3.baskı). İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 1203-1208, 2002.

Endimiani A, Luzzaro F, Pini B, Amicosante G, Rossolini GM, Toniolo AQ: *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: Risk factors and treatment outcome related to expression of the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase. BMC Infect Dis, 6, 2006.

Erayman İ, Erayman B, Arıbaşı ET: İdrar örneklerinden izole edilen gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg, 15: 164, 2001.

Erdem B: “*Enterobacteriaceae*” Prof. Dr. Semsettin Ustaçelebi (ed): Temel ve klinik mikrobiyoloji. Güneş Yayınları, 1. Baskı, 471-515, Ankara, 1999.

Erdoğan H, Arslan H: Çocuklarda toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyon etkenleri ve antibiyotik duyarlılıkları. Nobel Med, 7: 15-18, 2011.

Erdoğan Ö, Öner A. Çocukluk çağı idrar yolu enfeksiyonları. Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics, 11(4):221-235, 2002.

Escobar-Páramo P, Le Menac 'h A, Le Gall T, Amorin C, Gouriou S, Picard B, Skurnik D, Denamur E., Identification of forces shaping the commensal *Escherichia coli* genetic structure by comparing animal and human isolates, Environmental microbiology, 8 (11), 1975-1984, 2006.

Farshad S, Emamghorashi F: The prevalence of virulence genes of *E. coli* strains isolated from children with urinary tract infection, Saudi J Kidney Dis Transpl, 20(4):613-617, 2009.

Feng Y, Mannion A, Madden CM, Swennes AG, Townes C, Byrd C, Marini RP, Fox JG: Cytotoxic *Escherichia coli* strains encoding colibactin and cytotoxic necrotizing factor (CNF) colonize laboratory macaques. Gut pathogens, 9 (1), 71, 2017.

Fernandes RC, Duarte PD: Perinephric and renal abscesses in children: A study of three cases. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 44(6):341-344, 2002.

Fincancı M, Ulutürk R, Eren G, Konuksal C, Soysal F, Sander S, Boztaş Z: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ve *Escherichia coli* kökenlerinde genişletilmiş spektrumlu beta laktamazların araştırılmasında kullanılan çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması, İnfeksiyon Derg, 17(1):55-60, 2003.

Fiorentini C, Fabbri A, Matarrese P, Falzano L, Boquet P, Malorni W: Hinderance of apoptosis and phagocytic behaviour: Induced by *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor (CNF1): Two realed

- activities in epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 241: 341-346, 1997.
- Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ: Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature reviews microbiology*, 13(5): 269-284, 2015.
- Fluit AC, Visser MR, Schmitz FJ: Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*, 14(4), 836-871, 2001.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS: *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis, 2002.
- Foxman B, Brown P: Epidemiology of urinary tract infections-transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infect Dis Clin N Am*, 17(2): 227-241, 2003.
- Fussell E, Kaack MB, Cherry R, Roberts JA: Adherence of bacteria to human foreskins. *The Journal of Urology*, 140(5):997-1001, 1988.
- Gaddar N, Anastasiadis E, Halimeh R, Ghaddar A, Matar GM, Abou Fayad A, Sherri N, Dhar R, AlFouzan W, Yusef H: Phenotypic and genotypic characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by *Escherichia coli* colonizing pregnant women. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 1-7, 2020.
- Garin EH, Olavarria F, Garcia-Nieto V, Valenciano B, Campos A, Young L: Clinical significance of primary vesicoureteral reflux and urinary antibiotic prophylaxis after acute pyelonephritis: A multicenter, randomized, controlled study. *Pediatrics*, 117:626-632, 2006.
- Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z: Extended spectrum Beta-lactamases: definition, classification and epidemiology. *Curr Issues Mol Biol*, 17, 11-22, 2014.
- Ghasemi K, Montazeri S, Mahmoudpour M, Shakibazad N, Fariborzi M, Rouzbehani K: evaluation of microbial resistance pattern in children with urinary tract infection in Bushehr between 2017 and 2018. *Journal of Pediatric Nephrology*, Volume 8, Number 3, 2020.
- Ghosh SK, Saha SK, Islam M, Etioclinical profile of urinary tract infection in children, *Journal of Medial Science and Clinical Research*, Vol:08, Issue:04, 180-184, 2020.
- Ginsburg CM McCracken GH: Urinary tract infections in young infants. *Pediatrics*, 69: 409-412, 1982.
- Giri A, Kafle R, Singh GK, Niraula: Prevalence of *Escherichia Coli* in urinary tract infection of children aged 1-15 years in a Medical College of Eastern Nepal. *J. Nepal Med. Assoc*, 58(221):11-14, 2020.
- Goldraich NP, Manfroi A: Febrile urinary tract infection: *Escherichia coli* susceptibility to oral antimicrobials. *Pediatr Nephrol* Mar,17(3): 173-176, 2002.
- Gordon DM, Clermont O, Tolley H, Denamur E: Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: Multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. *Environ Microbiol*, 10(10) 2484-2496, 2008.
- Goudarzi H, Aghamohammad S, Hashemi A, Nikmanesh B, Noori M: Distribution of bla_{tem}, bla_{shv} and bla_{ctx-m} genes among *Escherichia coli* isolates causing urinary tract infection in children. *Archives Of Clinical Infectious Diseases*, Volume 8, Number 3, 1-4, 2013.
- Gökçe İ AH, Bıyıklı N: Urinary tract pathogens and their antimicrobial resistance patterns in Turkish children. *Pediatr Nephrol*, 21:1327-1328, 2006.

Görgeç S: Genişlemiş spektrumlu Beta-laktamaz üreten nozokomiyal *Escherichia coli* izolatlarında beta-laktamaz genleri ve klonal ilişkinin araştırılması. İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Malatya, 2012.

Görgen Ö: Genel Bir Bakış: Çocukluk çağı idrar yolları enfeksiyonu. Nefroloji Hemşireliği Dergisi, Temmuz-Aralık 2. Sayı: 50-64, 2016.

Gutmann L, Kitzis MD, Yamabe S, Acar, JF: Comparative evaluation of a new β -lactamase inhibitor, YTR 830, combined with different β -lactam antibiotics against bacteria harboring known β -lactamases. Antimicrob. Agents Chemother, 29:955–957, 1986.

Gülay Z, Abacıoğlu H, Yuluğ N: Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonuca etkisi, İnfeksiyon Derg, 9(1-2):89-92, 1995.

Gülay Z: Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: Beta-laktamlara ve Karbapenemlere direnç. Hastane İnfek. Derg, 5: 210-229, 2001.

Hanson L, Fasth A, Jodal U, Kaijser B, Edén CS: Biology and pathology of urinary tract infections. Journal of clinical pathology, 34(7): 695, 1981.

Hansson S, Brandstrom P, Jodal U, Larsson P: Low bacterial counts in infants with urinary tract infection. The Journal of Pediatrics, 132: 180-182, 1999.

Hansson S, Caugant D, Jodal U, Svanborg-Eden C: Untreated asymptomatic bacteriuria in girls: I--Stability of urinary isolates. Bmj, 298(6677):853-855, 1989.

Hansson S, Jodal U: Urinary tract infection. Avner ED, Harmon WE (eds): Pediatric nephrology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1007-1027, 2004.

Hasanlı L: Kan ve idrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* izolatlarında virülens genlerinin araştırılması. Selçuk Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri, 2020.

Hellerstein S, Linebarger JS: Voiding dysfunction in pediatric patients. Clin Pediatr, 42:43-49, 2003.

Herzer PJ, Inouye S, Inouye M, Whittam TS: Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. Journal of Bacteriology, 172: 6175-6181, 1990.

Hoberman A, Wald ER: Urinary tract infections in young febrile children. The Pediatric infectious disease journal, 16(1):11-17, 1997.

Hoberman A, Wald ER, Hickey RW, Baskin M, Charron M, Majd M, Kearney DH, Reynolds EA, Ruley J, Janosky JE: Oral versus initial intravenous therapy for urinary tract infection in young febrile children. Pediatrics, 104:79-86, 1999.

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST (eds): Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1994.

Hoşoğlu S, Gündeş S, Kolaylı F, Karadenizli A, Demirdağ K, Günaydın M, Altındış M, Caylan R, Uçmak H: Extended-spectrum Beta-lactamases in Seftazidim-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Turkish hospitals. Indian Journal of Medical Microbiology, 25(4), 346-350, 2007.

Houdouin V, Bonacorsi S, Mahjoub-Messai F, Mariani-Kurkdjian P, Bidet P, Sebag G, Loirat C, Bourrillon A, Binge E: Phylogenetic groups and virulence factors of *Escherichia coli* strains causing pyelonephritis in children with and without urinary tract abnormalities. Clinical Microbiology and Infection, Volume 13, Number 7, 740-742, 2007.

<https://bioanalyse.com/bioanalyse-antimikrobiyal-duyarlilik-testi-diskleri>. Erişim tarihi: 24.01.2021

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/boyama-setleri/gram-jensen-boyama-kiti-250-ml/>
Erişim tarihi: 24.01.2021

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/petride-besiyeri/5-sheep-blood-agar-emb-agar/>
Erişim tarihi: 24.01.2021

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/petride-besiyeri/mueller-hinton-agar/> Erişim tarihi:
24.01.2021

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tupte-sisede-besiyeri/triple-sugar-iron-agar-5-ml/>
Erişim tarihi: 24.01.2021

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tupte-sisede-besiyeri/mio-medium-5-ml/> Erişim
tarihi: 24.01.2021

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tupte-sisede-besiyeri/simmons-citrate-agar/> Erişim
tarihi: 24.01.2021

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tupte-sisede-besiyeri/urea-agar-5-ml/> Erişim tarihi:
24.01.2021

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/tuptesisedebesiyeri/mueller-hinton-broth-5-ml/>
Erişim tarihi: 24.01.2021

[https://scholar.google.com/scholar?hl=tr&as_sdt=0%2C5&q=urinary+tract+infections+in+children
&btnG=](https://scholar.google.com/scholar?hl=tr&as_sdt=0%2C5&q=urinary+tract+infections+in+children&btnG=) Erişim tarihi: 24.01.2021

<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22364>. Erişim tarihi: 27.12.2020 Erişim tarihi: 24.01.2021

<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22917>. Erişim tarihi: 27.12.2020 Erişim tarihi: 24.01.2021

Huttner A, Verhaegh EM, Harbarth S, Muller A E, Theuretzbacher U, Mouton JW: Nitrofurantoin revisited: A systematic review and meta-analysis of controlled trials. *J Antimicrob Chemother*, 70(9), 2456–2464, 2015.

Isenberg HD: Processing and Interpretation of urine cultures. **In:** Essential procedures of clinical microbiology. American Society for Microbiology, Washington DC, 95-101, 1998.

Işık F, Arslan U, Tuncer İ: Kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç yöntemin karşılaştırılması, *ANKEM Derg*, 21(3):165-170, 2007.

İlçebaylık A: Broylerden izole edilen *Escherichia Coli*'lerin önemli virulans genlerinin ve antibiyotik direncinin incelenmesi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji AD, Yüksek Lisans Tezi, 2020.

Jack S: Urinary tract infections. **In:** Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds): Nelson textbook of pediatrics. 16th ed. Philadelphia, WB Saunders comp, 1621-1629, 2000.

Jacoby GA, Munoz-Price LS: The new β -lactamases. *N Engl J Med*, 352, 380-391, 2005.

Jacoby GA: Extended-spectrum beta-lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino-beta-lactams. *Infect Dis Clin N Am*, 11, 875-887, 1997.

Jahandeh N, Ranjbar R, Behzadi P, Behzadi E: Uropathogenic *Escherichia coli* virulence genes: Invaluable approaches for designing DNA microarray probes. Central European Journal of Urology, 68: 452-458, 2015.

Jann K, Jann BJ: Capsules of *Escherichia coli*, p.113-143. **In:** Sussman M (ed): *Escherichia coli: Mechanisms of virulence*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1977.

Jantusch B, Kher K: Urinary tract infection. Clinical Pediatric Nephrology, 2th ed. 553-572, 2007.

Jantusch BA, O'Donnell R, Wiedermann BL: Urinary interleukin-6 and interleukin-8 in children with urinary tract infection. Ped Nephrol, 15:236-240, 2000.

Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A: Extended broad-spectrum Beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis, 10:867-878, 1988.

Johnson A-B, Normark S, Rhen M: Fimbriae, pili, flagella and bacterial virulence. **In:** Concepts in bacterial virulence. Karger Publishers (ed). 67-89, 2005.

Johnson JR, Kuskowski MA, Owens K, Gajewski A, Winokur PL: Phylogenetic origin and virulence genotype in relation to resistance to fluoroquinolones and/or extended-spectrum cephalosporins and cephamycins among *Escherichia coli* isolates from animals and humans. The Journal of Infectious Diseases, Volume 188, Issue 5, 2003.

Johnson JR, Russo TA: Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. Int J Med Microbiol, 295, 383-404, 2005.

Johnson L, Sabel A, Burman WJ, Everhart RM, Marcie Rome M, Price CS: emergence of fluoroquinolone resistance in outpatient urinary *Escherichia coli* isolates. The American Journal of Medicine, 121(10), 876-884, 2008.

Jones KV, Asscher AW: Urinary tract infection and vesicoureteral reflux. **In:** Edelmann CM (ed). Pediatric kidney disease. Boston, Toronto, London: Little, Brown and Company, 1943-1991, 1992.

Kaçmaz B, Özenç ÇF, Aksoy A: Hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması, ANKEM Derg, 19(3):125-129, 2005.

Kahraman D: Üropatojen *Escherichia Coli* kökenlerinde kinolon direncinin moleküler yöntemlerle gösterilmesi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2010.

Kandur Y, Küpeli S: Vezikoureteral reflü ve idrar yolu enfeksiyonu. Klinik Pediatri, 2(2):69-73, 2003.

Karacı M, Karagöz K, Örnek Z, Yaşar A, Yüce N, Okumuş Ö: Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonunda profilaktik amaçlı antibiyotik kullanımının çocuklarda antibiyotik direnç gelişimine etkisi, Med Bull Haseki, 55:221-228, 2017.

Kılıç A, Yapar M, Saraçlı MA, Baysallar M: Spinal cord yaralanmalı hastalardan izole edilen *E. coli* suşlarının random amplifiye polimorfik DNA- PCR (RAPD) yöntemi ile genetik analizi. Güllhane Tıp Dergisi, 45(2) 143-146, 2003.

Kılınç Ç: Klinik örneklerden izole edilen *E. coli* izolatlarının genotiplendirilmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Hatay, 2013.

- Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P: Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52, 8, 2818-2824, 2008.
- Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B: Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*, 28:302-307, 1985.
- Koczura R, Kaznowski A: The Yersinia high-pathogenicity island and iron-uptake systems in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Journal of Medical Microbiology*, 52: 637-642, 2003.
- Koçak M, Büyükkaragöz B, Tayfur AÇ, Çaltık A, Köksoy AY, Çizmeci Z, Günbey S: Causative pathogens and antibiotic resistance in children hospitalized for urinary tract infection *Pediatrics International*, 58, 467-471, 2016.
- Kola A, Holst M, Chaberny IF, Ziesing S, Suerbaum S, Gastmeier P: Surveillance of extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria and routine use of contact isolation: experience from a three-year period. *J Hosp Infect*, 66 (1): 46-51, 2007.
- Koljal S, Trusalu K, Stsepelova J, Pai K, Vainumae I, Sepp E, Mikelsaar M. The *Escherichia coli* phylogenetic group B2 with integrons prevails in childhood recurrent urinary tract infections. *APMIS*, 122:452-458, 2014.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM. Schreckenberger PC: Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th ed. Philadelphia, Lippincott, USA, 1997.
- Kongur E: Üriner sistem enfeksiyonu ön tanı bakteriyemik ve nonbakteriyemik hasta örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* kökenlerinde virülens genlerinin araştırılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2017.
- Kudinha T: The Pathogenesis of *Escherichia coli* Urinary Tract Infection. **In:** Samie A. (ed): *Escherichia coli*-Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications, Rijeka, Croatia: Intech, 45-70, 2017.
- Lau HS, Cheesbrough J, Kaufmann EM, Woodford N, Rapid identification of uropathogenic *Escherichia coli* of the O25:H4-ST131 clonal lineage using the DiversiLab repetitive sequence-based PCR system, *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 16: 232-237, 2009.
- Lau HS, Reddy S, Cheesbrough J, Bolton JF: Major uropathogenic *Escherichia coli* strain isolated in the Northwest of England identified by Multilocus sequence typing, *Journal of Clinical Microbiology*, 46 (3): 1076-1080, 2008.
- Lin DS, Huang SH, Lin CC, Tung YC, Huang TT, Chiu NC, Koa HA, Hung HY, Hsu CH, Hsieh WS, Yang DI, Huang FY: Urinary tract infection in febrile infants younger than eight weeks of Age. *Paediatrics*, 105: E20, 2000.
- Lindberg F, Normark S: Contribution of chromosomal β -lactamases to β -lactam resistance in enterobacteria. *Rev. Infect. Dis*, 8 (Suppl. 3):292-304, 1986.
- Livermore DM: β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*, 8(4), 557-584, 1995.
- Loening-Baucke V: Urinary incontinence and urinary tract infection and their resolution with treatment of chronic constipation of childhood. *Pediatrics*, 100:228-232, 1997.

- Logan LK, Rispens JR, Medernach RL, Domitrovic TN, Hujer AM, Marshall SH, Rudin SD, Qureshi NK, Zhenk X, Hayden MK, Weinstein RA, Bonomo RA: A Multicentered study of the clinical and molecular epidemiology of TEM- and SHV-type extended-spectrum Beta-lactamase producing enterobacterales infections in children, *The Pediatric Infectious Disease Journal*, Volume 40, Number 1, 2021.
- Mabilat C., Courvalin P: Development of "oligotyping" for characterization and molecular epidemiology of TEM β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 34(11), 2210-2116, 1990.
- Mahony M, McMullan B, Brown J, Kennedy SE: Multidrug-resistant organisms in urinary tract infections in children. *Pediatric Nephrology*, 35:1563–1573, 2020.
- Marild S, Jodal U: Incidence rate of first-time symptomatic urinary tract infection in children under 6 years of age, *Acta Paediatr*, 87: 549–552, 1998.
- McGowan JE: Economic impact of antimicrobial resistance. *Emerg Infect Dis*, 7: 286-292, 2001.
- Megged O: Extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria causing community-acquired urinary tract infections in children, *Pediatr Nephrol*, 29:1583–1587, 2014.
- Memariani M, Najar-Peerayeh S, Salehi TZ, Mostafavi SKS: Occurrence of SHV, TEM and CTX-M β -Lactamase genes among enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from children, with diarrhea, *Jundishapur J Microbiol*, 8(4), 2015.
- Mıstık R: Aminoglikozid, antibiyotikler ve günde tek doz kullanımları, *Klinik Dergisi*, Cilt 13, sayı 2, 43-45, 2000.
- Mir S, Erdoğan H, Güler S, Şengül GH, Koyu A, Aydemir Ş: Çocuk yaş grubu idrar yolu enfeksiyonlarında Ege Bölgesi antibiyotik direnci. *Ege Tıp Dergisi*, 41: 207-210, 2002.
- Moziogolu E: Elektroforezin temelleri ve türleri. Tüm boyutları ile elektroforez sempozyumu ve kursu, İstanbul, 27-29 Haziran 2019.
- Mpelle FL, Ngoyi ENO, Kayath CA, Nguimbi E, Moyon R, Kobawila SC: First report of the types TEM, CTX-M, SHV and OXA-48 of beta-lactamases in *Escherichia coli*, from Brazzaville, Congo. *Afr J Microbiol Res*, 13, 8, 158-167, 2019.
- Mulvey MA: Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiol*, 4(5), 257-271, 2002.
- Munita JM and Arias CA: Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectr*, 4 (2): VMBF-0016-2015, 2016.
- Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 2003.
- Naas T, Poirel L, Nordmann P: Minor extended-spectrum Beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect*, 14, 42-52, 2008.
- Navidinia M, Peerayeh SN, Fallah F, Bakhshi B, Sajadinia SR: Phylogenetic grouping and pathotypic comparison of urine and fecal *Escherichia coli* isolates from children with urinary tract infection, *Brazilian Journal of Microbiology*, 45, 2, 509-514, 2014.
- Newman TB, Bernzweig JA, Takayama JI, Finch SA, Wasserman RC, Pantell RH: Urine testing and urinary tract infections in febrile infants seen in office settings: The pediatric research in office settings' febrile infant study. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 156(1):44-54, 2002.

Newton CR: PCR Essential Data. John Wiley and Sons LTD. Baffins Lane, Chichester, West Sussex PO 19, 1UD, UK, 1995.

Norrby SR: Urinary tract infections. **In:** Finch RG, Greenwood D, Norrby SR, Whitley RJ (eds). Antibiotic and chemotherapy 8th ed. Churchill Livingstone, Toronto, 764-771, 2003.

Noyan A: Çocuklarda idrar yolu enfeksiyonlarında tanı, tedavi ve görüntüleme yöntemleri. Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics Special Topics, 2(2):138-144, 2004.

Oberhofer TR, Hajkowski R: Evaluation of non-lactose-fermenting members of the *Klebsiella-Enterobacter Serratia* division: I. Biochemical characteristics. Am J Clin Pathol, 54:720-725, 1970.

Obi CL, Tarupiva A, Simango C: Scope of Urinary pathogens isolated in the public health bacteriology laboratory, Herare: Antibiotic susceptibility patterns of isolates and incidence of haemolytic bacteria. Centr Afr J Med, Aug; 42(8):244-249, 1996.

Omerovic M, Müştak HK, Kaya İB: *Escherichia coli* Patotiplerinin virülens faktörleri. Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 28 (1): 1-6, 2017.

Oscar GD, Arzuza O, Urbina D, Bai J, Guerra J, Montes O, Puello M, Mendoza K, Castro YG: Detection of *Escherichia coli* Enteropathogens by Multiplex Polymerase Chain Reaction from Children's Diarrheal Stools in Two Caribbean-Colombian Cities. Foodborne Pathogens and Disease, Volume 7, Number 2, 2010.

Ögedey ED: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında Ctx-M enzim tiplerinin belirlenmesi, Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, s. 30, 2011.

Öksüz M: Üriner sistem enfeksiyonu olan çocuk hastaların retrospektif değerlendirilmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Samsun, 2009.

Özer S: Üriner sistem enfeksiyonlarında hemşirelik yaklaşımları. Nefroloji Hemşireliği Dergisi, 1-7, Kasım 2005-Şubat 2006.

Öztürk CE, Kaya D, Yücel M, Çalışkan E, Behçet M, Ankaralı H: Genişlemiş spektrumlu Beta-laktamaz tespitinde kullanılan bazı fenotipik testlerin karşılaştırılması. ANKEM Derg, 24(3):111-116, 2010.

Palaniappan MUR, Zhang Y, Chiu D, Torres A: Differentiation of *Escherichia coli* pathotypes by oligonucleotide spotted array. Journal of Clinical Microbiology, 44 (4): 1495-1501, 2006.

Parajuli NP, Maharjan P, Parajuli H, Joshi G, Paudel D, Sayami S, Khanal PR: High rates of multidrug resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in children and analyses of ESBL producers from Nepal. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 6(9), 2017.

Patel JB, Cockeril FR, Alder J, Bradford PA, Dudley MN, Eliopoulos GM, Hardy DJ, Hecth DW, Hindler JA, Powell M, Swenson JM, Thomson Jr RB, Traczewski MM, Turnidge JD, Weinstein MP, Zimmer BL: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fourth Informational Supplement, Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI Document M100-S24. Wayne, USA, Vol. 34, No 1, p. 50, 2014.

Paterson DL, Bonomo RA: Extended-spectrum β -Lactamases: A clinical update. Clin Microbiol Rev, 18 (4): 657-686, 2005.

Picard B, Garcia JS, Gouriou S, Duriez P, Brahimi N, Bingen E, Elion J, Denamur E: The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. Infect Immun, 67:546-553, 1999.

- Pitout JD, Hossain A, Hanson ND: Phenotypic and molecular detection of CTX-M- β -lactamases produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella spp*, J Clin Microbiol, 42(12), 5715-5721, 2004.
- Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity: Epidemiology and genetics of class D β -Lactamases. Antimicrob Agents Chemother, 54(1): 24–38, 2010.
- Pons D, Pons MN: Gram-staining characterization of activated sludge filamentous bacteria by automated color analysis. Biotechnology Letters, Vol.26, pp.1841-1846, 2004.
- Ramirez MS, Tolmasky ME: Amikasin: uses, resistance, and prospects for inhibition, Molecules, 22, p. 2267, 2017.
- Rasheed J K, Jay C, Metchock B, Berkowitz L, Weigel J, Crellin J, Steward C, Hill B, Medeiros AA, Tenover FC: Evolution of extended-spectrum beta-lactam resistance (SHV-8) in a strain of *Escherichia coli* during multiple episodes of bacteremia. Antimicrob Agents Chemother, 41: 647-653, 1997.
- Reid R, Samaras S: The development and evaluation of a multiplex real-time PCR assay for the detection of ESBL genes in urinary tract infections. Int J Clin Microbiol, 1 (1): 16-24, 2018.
- Roberts KB: Urinary tract infection: clinical practice guideline for the diagnosis and management of the initial UTI in febrile infants and children 2 to 24 months. Pediatrics, 128(3): p. 595-610, 2011.
- Robino L, Garcí'a-Fulgueiras V, Araujo L, Algorta G, Pi´rez MC, Vignoli R: Urinary tract infection in Uruguayan children: Aetiology, antimicrobial resistance and uropathogenic *Escherichia coli* virulotyping, JGAR-109, Page 6, 2014.
- Roschanski N, Fischer J, Guerra B, Roesler U: Development of a multiplex real-time pcr for the rapid detection of the predominant Beta-Lactamase genes CTX-M, SHV, TEM and CIT-type ampCs in *Enterobacteriaceae*. Plos One, Volume 9, Issue 7, 2014.
- Rubin RH CR, Tolkoff-Rubin N: Urinary tract infection, pyelonephritis, and reflux nephropathy. Brenner BM (ed) The Kidney, 5th edition. 5th edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; p. 1597-1654, 1996.
- Russo TA, Johnson JR: Proposal for a new inclusive desination for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli* ExPEC. J Infect Dis,181: 1753-1754, 2000.
- Sadeqy H: Hastalardan İzole edilen üropatojenik *Escherichia Coli* (Upec) suşlarında bazı virulans genlerin ve Mcr-1 geninin prevelansı. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2020.
- Salehi ZT, Madani AS, Karimi V, Khazaeli AF: Molecular genetic differentiation of avian *Escherichia coli* by RAPD-PCR, Brazilian Journal of Microbiology, 39: 494-497, 2008.
- Sastre JBL, Aparicio AR, Cotallo GDC, Colomer BF, Hernández MC, de Hospitales Castrillo G: Urinary tract infection in the newborn: clinical and radio imaging studies. Pediatric Nephrology, 22(10):1735-1741, 2007.
- Schembri MA, Klemm P: Biofilm formation in a hydrodynamic environment by novel fimH variants and ramifications for virulence. Infection and Immunity, 69: 1322-1328, 2001.
- Schwaber MJ, Carmeli Y: Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother, 60; 913–920, 2007.

- Senemoğlu N: Gelişim öğrenme ve öğretim-kuramdan uygulamaya, 25. Baskı. Anı Yayınları, Ankara, 2018.
- Shaikh N, Morone NE, Bost JE, Farrell MH: Prevalence of urinary tract infection in childhood: a meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J*, 27:302, 2008.
- Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi S, Kamal MA, Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi J Biol Sci*, 22(1), 90-101, 2015.
- Shakti L, Veeraraghavan B: Advantage and limitations of nitrofurantoin in multidrug resistant Indian scenario, 33(4):477–481, 2015.
- Sharma A, Shrestha S, Upadhyay S, Rijal P: Clinical and bacteriological profile of urinary tract infection in children at Nepal Medical College Teaching Hospital, *Nepal Med Coll J*, 13(1): 24-26, 2011.
- Shulman ST, Friedmann HC, Sims RH: Theodor Escherich: the first pediatri infectious diseases physician? *Clin Infect Dis*, 45, 1025–1029, 2007.
- Silver LL: Fosfomisin: Mechanism and resistance, Lynn L, Bush Silver and Karen (eds): *Additional Perspectives on Antibiotics and Antibiotic Resistance* available at www.perspectivesinmedicine.org, 2017, Erişim Tarihi, 24.01.2021.
- Singh SD, Madhup SK: Clinical profile and antibiotics sensitivity in childhood urinary tract infection at Dhulikhel Hospital. *Kathmandu University medical journal (KUMJ)*, 11(44):319-324. 2013.
- Sobel JD, Kaye D: Urinary tract infections, Mandell, Douglas, and Bennett's principles and Practice of infectious diseases, 8th Edition, Chapter 74, p:886-913, 2015.
- Sobel JD: Pathogenesis of urinary tract infection. Role of host defenses. *Infect Dis Clin North Am*, 11: 531-549, 1997.
- Sotto A, De Boever CM, Fabbro-Peray P, Gouby A, Sirot D, Jourdan J: Risk factors for antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients with urinary tract infections: a prospective study. *J Clin Microbiol*, Feb; 39(2): 438-444, 2001.
- Stamm EW: Cystitis and urethritis. *Diseases of the kidney and urinary tract*. 7th ed. Lippincot Williams & Wilkins Publishers, 33, 2001.
- Stamm WE, Stapleton AE: Approach to the patient with urinary tract infection. **In:** Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR (eds). *Infectious Diseases*. 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 943-54, 1998.
- Stull TL, Lipuma JJ: Epidemiology and natural history of urinary tract infections in children. *Med Clin North Am*, 75(2):287-97, 1991.
- Stürenburg E, Mack D: Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy and infection control. *J Infect*, 47(4): 273-95, 2003.
- Subashchandrabose S, Mobley HLT: Virulence and fitness determinants of uropathogenic *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr*, 3, 4. 2015.
- Subhadra B, Kim DH, Kim J, Woo K, Sohn KM, Kim HJ, Han K, Oh MH, Choi CH: Complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli* isolate UPEC 26-1. *Genes Genom*, 40, 6, 643-55. 2018.

- Sussman M: *Escherichia coli* – Mechanisms of virulence, Cambridge University Press, UK, 1997.
- Svanborg C, Bergsten G, Fischer H, Frendeus B, Godaly G, Gustafsson E, Hang L, Hedlund M, Karpman D, Lundstedt AC, Samuelsson M, Samuelsson P, Svensson M, Wullt B: The 'innate' host response protects and damages the infected urinary tract. *Annals of Medicine*, 33, 563-70, 2001.
- Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, Kahlmeter G, Pan A, Petrosillo N, Rodriguez-Bano J, Singh N, Venditti M, Yokoe DS, Cookson B: European society of clinical microbiology: ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect*, 20 (Suppl 1): 1-55, 2014.
- Talbot GH, Bradley J, Edwards JE, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG: Bad bugs need drugs: An update on the development pipeline from the antimicrobial availability task force of the infectious diseases Society of America, *Clinical Infectious Diseases*, 42:657–668, 2006.
- Tapısız A: Üriner enfeksiyonlarda antibiyotik kullanımı. 8. Ulusal Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 10-14 Mayıs 2013, Antalya, konuşma metinleri ve bildiri özetleri kitabı, 37-41, 2013.
- Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J: Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *Int J Infect Dis*, 17(6) 450-453, 2013.
- Taşkesen M, Bayazıt AK: Çocuklarda idrar yolu enfeksiyonu, *Arşiv*, 18(2): 57-69, 2009.
- Terlizzi ME, Gribaudo G, Maffei ME: Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. *Front Microbiol*, 8, 2017.
- To T, Agha M, Dick PT, Feldman W: Cohort study on circumcision of newborn boys and subsequent risk of urinary-tract infection. *The Lancet*, 352(9143):1813-1816, 1998.
- Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M: Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. 3. baskı. Nobel Tıp Kitapevi, 1487-1499, 2136-2147, 2008.
- Töreci K: “*Escherichia türleri*”. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M: İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi, Nobel tıp kitapçevleri, cilt 2: sayfa 1564-1574, 2002.
- Türkiye Milli Pediatri Derneği Çocuk Nefroloji Derneği Ortak Kılavuzu, 2014.
- Unat EK: Tıp bakteriyolojisi ve virolojisi, Dergâh Tıp Yayınları, İkinci Baskı, cilt 1: sayfa 546, 1986.
- Uysal A, Gunes E, Arslan E, Durak Y: Characterization of uropathogenic *Escherichia Coli* strains: antibiotic resistance patterns, detection of ESBL genes and interactions by lytic phages. *Fresen Environ Bull*, 27(1), 402-414, 2018.
- Ünsal H: İdrar yolu enfeksiyonlu çocuklarda piyüri, bakteri, lökosit esteraz, nitrit pozitifliği ile üropatojen arasındaki ilişki ve antibiyotik direnci, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Dr. Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2018.
- Vanessa S, Carlyn JH: Enteroherrhagic *E. coli* and Other Shiga Toxin Producing *E. coli*, p.23. 2015.
- Vervoort J, Xavier B, Stewardson A, Coenen S, Godycki-cwirko M, Adriaenssens N: An in vitro deletion in ribE encoding lumazine synthase contributes to nitrofurantoin resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 58(12), 7225–7233, 2014.
- Wald ER. Cystitis and pyelonephritis. Feigin and Cherry’s textbook of pediatric infectious diseases. 7th ed. 535, 2014.

Wani AK, Ashraf M, Bhat AJ, Parry AN, Shaheen L, Bhat AS: Paediatric urinary tract infection: A hospital based experience, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, Oct, Vol-10(10), p. 4-7, 2016.

Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE: Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Clin Infect Dis*, 29:745–758, 1999.

Wettergren B, Hellström M, Stokland E, Jodal U: Six year follow up of infants with bacteriuria on screening. *BMJ*. 301(6756):845-848, 1990.

Wettergren B, Jodal U, Jonasson G: Epidemiology of bacteriuria during the first year of life. *Acta Paediatrica*, 74(6):925-933, 1985.

Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA: Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol*, 85(1) 11-19, 2008.

Winberg J, Andersen H, Bergström T, Jacobsson B, Larson H, Lincoln K: Epidemiology of symptomatic urinary tract infection in childhood. *Acta Paediatrica*, 63(S252):1-20, 1974.

Winn WJ, Tenover FC, Koneman EW, Procop G, Schreckenberger P, Woods G: Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology, Philadelphia, Pa; London, Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

Wippermann CF, Schofer O, Beetz R, Schumacher R, Schweden F, Riedmiller H, Büttner J: Renal abscess in childhood: diagnostic and therapeutic progress. *Pediatr Infect Dis J*, Jun;10(6):446-450, 1991.

Wiswell TE, Miller GM, Gelston HM, Jones SK, Clemmings AF: Effect of circumcision status on periurethral bacterial flora during the first year of life. *The Journal of pediatrics*, 113(3):442-446. 1988.

Wiswell TE, Rosceli JD: Corroborative evidence for the decrease incidence of urinary tract infections in circumcised male infants. *Pediatrics*, 78-96, 1986.

Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, Turton J, Fagan EJ, James D, Johnson AP, Pike R, Warner M, Cheasty T, Pearson A, Harry S, Leach JB, Loughrey A, Lowes JA, Warren RE, Livermore DM: Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended spectrum Beta-lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother*, 54: 735-743, 2004.

Yamamoto S, Terai A, Yuri K, Kurazono H, Takeda Y, Yoshida O: Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 12(2): 85-90, 1995.

Yaşar A, Yaşar B, Akyüz-Özkan E, Savcı Ü: Yozgat yöresi çocukluk çağı idrar yolu enfeksiyonuna en sık sebep olan etkenler ve antibiyotik dirençleri, *Bozok Tıp Derg*, 8(2):53-8, 2018.

Yılmaz K, Ermertcan Ş, Taşlı H, Kurutepe S, Demiray T: Pediatrik ve yetişkin hastalardan izole edilen *E. coli* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının ve virülens faktörlerinin irdelenmesi, *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, Cilt 2, Sayı 2, 1-11, 2017.

Yun. KW, Kim DS, Kim W, Lim IS: Molecular typing of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from Korean children with urinary tract infection. *Korean J Pediatr*, 58(1):20-27, 2015.

Zimmer C: *Microcosm. Coli and the new science of life*. New York: Vintage, 2008.