

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIYMA, ET, TAVUK VE PEYNİR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN
ESCHERICHIA COLI'NİN BAZI ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE VİRÜLANS
GENLERİNİN PCR İLE TESPİTİ

HADIYE KESKİN

AĞUSTOS 2019

Biyomühendislik Anabilim Dalında Hadiye KESKİN tarafından hazırlanan KIYMA, ET, TAVUK VE PEYNİR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI*'NİN BAZI ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE VİRÜLANS GENLERİNİN PCR İLE TESPİTİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin Yüksek Lisans Tezi olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN
Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ _____

Üye(Danışman): Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN _____

Üye : Doç. Dr. Ebru BEYZİ _____

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Recep ÇALIN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

KIYMA, ET, TAVUK VE PEYNİR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI*'NİN BAZI ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE VİRÜLANS GENLERİNİN PCR İLE TESPİTİ

KESKİN, Hadiye

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN

Ağustos 2019, 100 sayfa

E. coli insanların ve sıcakkanlı hayvanların bağırsağındaki yaygın bakterilerden biridir. *E. coli* suşları dünya çapında çeşitli gıda kaynaklı hastalıklara neden olur ve halk sağlığını tehdit ederler. *E. coli*'nin bazı suşları virülans genler ve antimikrobiyal direnç genlerine sahiptir. *E. coli* suşlarının virülans genleri adezinleri, demir kazanım sistemlerini, lipoproteinleri, kapsüler polisakaritleri kodlarlar. Bunlar insanlarda *E. coli*'nin hastalık yapmasına neden olurlar. Bazı *E. coli* suşları hastalıkların tedavisinde kullanılan trimetoprim, beta-laktam, makrolid ve kinolon gibi önemli antimikrobiyallere direnç gösterirler.

Bu çalışmanın amacı, Bolu ilindeki çeşitli marketlerden toplanan et, tavuk, kıyım, peynir örneklerinden izole edilen 283 *E. coli* izolatının *fimH*, *fyuA*, *papG II*, *traT*, *kpsMT II* virülans genleri ve *gyrA*, *dhfrV*, *ereA*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}* antimikrobiyal direnç genlerinin bulunma sıklığını Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile tespit etmektir. PCR hızlı, kolay, doğru ve ekonomik olduğundan tercih edilmiştir.

Çalışmamızda varlığını araştırdığımız virülans genleri ve antimikrobiyal direnç genleri farklı oranlarda tespit edilmiştir. Antimikrobiyal direnç genlerinden *bla_{CTX-M}* hiçbir izolatta tespit edilemezken, *gyrA* geni tüm izolatlarda tespit edilmiştir. *ereA*

geni ise sadece 2 (%1,48) izolatta tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki izolatlardan 2 (T42, T43)'sinde 4 (*gyrA*, *dhfrV*, *ereA*, *bla_{TEM}*) antimikrobiyal direnç geni tespit edilmiştir. 39 izolatta hiçbir virülans gen tespit edilememiştir. Çalışılan izolatlarda en çok *fimH* (%61) virülans geni tespit edilirken, en az *papG II* (%13,4) ve *kpsMT II* (%13,1) genleri tespit edilmiştir.

Çalışmamızın sonuçları; tükettiğimiz hayvansal gıdalarda virülans genlerin ve antimikrobiyal direnç genlerinin oldukça yaygın olduğunu moleküler yöntemlerle ortaya koymuştur ve hayvanlardan insanlara antimikrobiyal direncinin geçmesi için potansiyel bir kaynak olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, virülans gen, antimikrobiyal direnç geni, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, kıyma, et, tavuk, peynir

ABSTRACT

DETECTION OF SOME ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND VIRULENCE GENES OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM GROUND MEAT, MEAT, CHICKEN, CHEESE SAMPLES BY PCR

KESKİN, Hadiye

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Bioengineering, M.Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN

August 2019, 100 pages

Escherichia coli is one of the most common bacteria of human and warm-blooded animals intestinal. *E. coli* strains cause various foodborne diseases worldwide and threat public health. Some strains of *E. coli* have virulence genes and antimicrobial resistance genes. Virulence genes of *E. coli* strains encode adhesins, iron acquisition systems, lipoproteins, capsular polysaccharides. Some strains of *E. coli* are resistant to important antimicrobials such as trimethoprim, beta-lactam, macrolide and quinolone used in the treatment of diseases.

The aim of this study was to determine the frequency of *fimH*, *fyuA*, *papG II*, *traT*, *kpsMT II* virulence genes and the frequency of *gyrA*, *dhfrV*, *ereA*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}* antimicrobial resistance of 283 *E. coli* strains isolated from meat, chicken, minced meat and cheese samples collected from various markets of Bolu province by Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR is preferred because it is fast, easy, accurate and economical.

The virulence genes and antimicrobial resistance genes that we investigated in our study were detected at different rates. *bla_{CTX-M}*, one of the antimicrobial resistance genes, was not detected in any of the isolates, whereas the *gyrA* gene was detected in all isolates. *ereA* gene was detected in only 2 (1.48%) isolates. 4 antimicrobial

resistance genes (*gyrA*, *dhfrV*, *ereA*, *bla_{TEM}*) were detected in 2 of the isolates (T42, T43) in our study. No virulence genes were detected in 39 isolates. While the most virulence gene was detected to be *fimH* (61%), at least *papG II* (13.4%) and *kpsMT II* (13.1%) genes were detected in the isolates.

The results of our study; It has been demonstrated by molecular methods that virulence genes and antimicrobial resistance genes are very common in animal foods we consume and have shown that it is a potential source for passing antimicrobial resistance from animals to humans.

Key Words: *Escherichia coli*, virulence gene, antimicrobial resistance gene, Polymerase Chain Reaction, minced meat, meat, chicken, cheese

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamda lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile yönlendiren danıőmanım Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN'e, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Murat İNAL'a, çalışmamızı gerçekleőtirebilmemiz için gerekli olan mikroorganizma örneklerini bize sağlayan, izolasyon ve tanımlamalarını yapan Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü ğretim yesi Prof. Dr. Seza ARSLAN ve Araştırma Görevlisi Dr. Fatma ÖZDEMİR'e, hayatım boyunca her zaman yanımda olan, büyük fedakarlıklarda bulunan sevgili annem, canım babam ve biricik kardeőtime teőtkkr ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Escherichia coli</i>	4
2.1.1. Ekstraintestinal Patojenik <i>Escherichia coli</i> (ExPEC).....	6
2.1.1.1. Üropatojenik <i>E. coli</i> (UPEC)	7
2.1.1.2. Kuş-patojenik <i>E. coli</i> (APEC).....	7
2.1.1.3. Menenjit ilişkili <i>E. coli</i> (NMEC)	8
2.1.1.4. Sepsis ilişkili <i>E. coli</i> (SEPEC)	8
2.1.2. İntestinal Patojenik <i>Escherichia coli</i> (InPEC).....	8
2.1.2.1. Difüze-yapışan <i>E. coli</i> (DAEC)	9
2.1.2.2. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC)	9
2.1.2.3. Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAEC)	10
2.1.2.4. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC/STEC/VTEC).....	10
2.1.2.5. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	11
2.1.2.6. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	12
2.2. VİRÜLANS GENLER	13
2.2.1. <i>fimH</i> Geni.....	13
2.2.2. <i>fyuA</i> Geni	14
2.2.3. <i>kpsMT II</i> Geni	15
2.2.4. <i>traT</i> Geni.....	16
2.2.5. <i>papG II</i> Geni	16
2.3. ANTİMİKROBİYALLER	17
2.3.1. β -Laktamlar.....	19

2.3.1.1. Penisilinler	19
2.3.1.2. Sefalosporinler	20
2.3.1.3. Monobaktamlar	20
2.3.1.4. Karbapenemler	20
2.3.1.5. β -Laktam/ β -Laktamaz İnhibitör Kombinasyonları	21
2.3.2. Kinolonlar	21
2.3.3. Makrolidler	22
2.3.4. Sülfonamidler.....	22
2.3.5. Aminoglikozitler.....	23
2.3.6. Tetrasiklinler	23
2.3.7. Glikopeptitler	24
2.3.8. Oksazolidinonlar	24
2.4. ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ	26
2.5. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR).....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
3.1. Materyal.....	33
3.1.1. İzolasyon Örnekleri.....	33
3.1.2. Referans Mikroorganizma	33
3.1.3. Tampon ve Çözeltiler.....	33
3.1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Tampon ve Çözeltiler .	33
3.1.3.2. Agaroz Jel Elektroforezi İçin Kullanılan Çözeltiler.....	35
3.1.3.3. Sterilizasyon	35
3.2. Yöntem	36
3.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	36
3.2.2. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Yürütülmesi	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	38
4.1. <i>E. coli</i> Kıyma Örneklerinin PCR Sonuçları	46
4.2. <i>E. coli</i> Tavuk Örneklerinin PCR Sonuçları	47
4.3. <i>E. coli</i> Et Örneklerinin PCR Sonuçları.....	48
4.4. <i>E. coli</i> Peynir Örneklerinin PCR Sonuçları.....	49
4.5. <i>E. coli</i> İzolatlarının PCR Amplifikasyonu Sonucu Elde Edilen Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçları.....	51

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	56
KAYNAKLAR	68



ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

3.1. <i>Escherichia coli</i> virülans genleri ve PCR amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri	34
3.2. <i>Escherichia coli</i> antimikrobiyal direnç genleri ve PCR amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri.....	35
3.3. <i>Escherichia coli</i> virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin tespitinde kullanılan PCR amplifikasyon programları	36
4.1. <i>E. coli</i> izolatlarında tespit edilen virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin sonuçları	38
4.2. 283 <i>E. coli</i> izolatında tespit edilen antimikrobiyal direnç ve virülans genlerinin kıyma, et, tavuk ve peynir örneklerindeki yüzde (%) dağılımı.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Sayfa

2.1. Antibiyotiklerin hedef bölgeleri	25
4.1. 37 <i>E. coli</i> kıyma örneğindeki virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları	47
4.2. 135 <i>E. coli</i> tavuk örneğindeki virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları	48
4.3. 29 <i>E. coli</i> et örneğindeki virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları	49
4.4. 82 <i>E. coli</i> peynir örneğindeki virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları	50
4.5. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>fimH</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	51
4.6. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>fyuA</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	51
4.7. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>papG II</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	52
4.8. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>traT</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	52
4.9. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>kpsMT II</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	53
4.10. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>gyrA</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	53
4.11. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>ereA</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	54
4.12. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>dhfrV</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	54
4.13. <i>E. coli</i> izolatlarındaki <i>bla_{TEM}</i> geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	55

KISALTMALAR DİZİNİ

AA	Agregatif yapışma
APEC	Kuş-patojenik <i>Escherichia coli</i>
ATCC	American Type Culture Collection
AE	Yapışma ve bozma lezyonu
aEPEC	Atipik EPEC
DAEC	Difüze yapışan <i>Escherichia coli</i>
bç	Baz çifti
CF	Kolonizasyon faktörü
dNTP	Deoksinükleotit trifosfat
DHPS	Dihidropteroat sentaz
DHFR	Dihidrofolat redüktaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
EAF	EPEC yapışma faktörü
EAEC	Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>
EHEC	Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>
EMB Agar	Eozin Metilen Mavisı Agar
EPEC	Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ExPEC	Ekstraintestinal patojenik <i>Escherichia coli</i>
GSBL	Geniş spektrumlu β -laktamazlar
HC	Hemorajik kolit
HGT	Yatay gen transferi
HUS	Hemolitik üremik sendrom
IBL	İndüklenebilir β -laktamazlar
InPEC	İntestinal Patojenik <i>Escherichia coli</i>
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
LT	Isıya duyarlı toksin
NMEC	Menenjit ilişkili <i>Escherichia coli</i>

PABA	Para-aminobenzoik asit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PBP	Penisilin bağlanma proteini
SEPEC	Sepsis ilişkili <i>Escherichia coli</i>
STEC	Shiga toksin oluşturan <i>Escherichia coli</i>
SLT	Shigella-benzer toksini
ST	Isıya dayanıklı toksin
tEPEC	Tipik EPEC
UPEC	Üropatojenik <i>Escherichia coli</i>
VT	Verotoksin



1. GİRİŞ

Gıda güvenliği fiziksel, biyolojik veya kimyasal pek çok faktörle tüketicilerde hastalıklara neden olarak tehdit edilmektedir. Biyolojik tehlikeler tüketiciler için doğrudan bir tehdit olabilmektedir ve birçok gıda kaynaklı salgında rol oynamaktadır. Bakteriler, parazitler, prionlar ve virüslerin hepsi bu kategoride yer almaktadır. Hayvansal kaynaklı gıdalara kesim veya yiyecek işleme sırasında bakteriler bulaşabilmektedir. Tavuk, sığır eti, süt ürünleri ve meyve suları gibi taze ürünler *E. coli* O157:H7 salgınları ile ilişkili yaygın gıdalardır [1].

İnsan nüfusunun ve kentleşmenin artması, küreselleşme, kişi başına düşen gelir, tüketici eğilimlerindeki değişimler hayvansal gıdaların tüketimini artırmaktadır. Bu ürünlerin tüketiminin 2030 yılına kadar 376 milyon tona yükseleceği tahmin edilmektedir. Kontrolü zor olduğundan hayvansal ürünlerin kirlenmesi ciddi bir endişe kaynağı olmaktadır [2].

Patojenik bakteriler, virüsler, parazitler ya da zararlı kimyasallar içeren güvenilir olmayan gıdalar ishalden kansere kadar iki yüzden fazla hastalık ve rahatsızlığa neden olmaktadır. ABD’de her yıl gıda kaynaklı hastalıklar 5.000 kişinin ölümüne, 76 milyon kişinin hastalanmasına, 325.000 kişinin hastaneye yatışına neden olmaktadır [3]. ABD gibi gelişmiş ülkelerde bile gıda kaynaklı hastalıkların tedavisi milyarlarca kayba neden olmaktadır [4].

E. coli O157:H7 salgınlarına neden olan en yaygın araçlardan biri kirlenmiş kıymadır. Et ürünleri kesim sırasında kirlenebilmektedir ve etin öğütülmesiyle et yüzeyinden içine patojenler geçebilmektedir. Bu yüzden kıyma tamamen pişirilmezse bakteriler hayatta kalabilmektedir. *E. coli* suşlarının çoğu zararsız, insan ve hayvan gastrointestinal bölgesini normal flora olarak kolonize etmektedir. Fakat bazı suşlar plazmidler, transpozonlar, bakteriyofajlar ya da patojenik adalar ile virülans faktörler edinerek patojenik *E. coli*’ye dönüşmektedir [5].

Gıdaların tüketilmesiyle alınan patojenlerin girişinin kolay olması insan gasrointestinal bölgesinin diyarejenik *E. coli* enfeksiyonlarına hassas olmasına neden olmaktadır. Patojenik *E. coli*'nin neden olduğu enfeksiyonlar bir mukozal yüzeye kolonizasyonla sınırlı kalabilmekte ya da tüm vücuda yayılabilmektedir. İdrar yolu enfeksiyonu, sepsis (sistemik iltihap), menenjit ve mide-bağırsak enfeksiyonları bunlardan birkaçıdır. Patojenik *E. coli* dünya çapında büyük bir halk sağlığı sorunudur ve her yıl iki milyondan fazla kişinin ölümüne neden olmaktadır. Bu durum *E. coli*'nin patojenik mekanizmaları üzerinde araştırma yapma gerekliliğinin önemini vurgulamaktadır [6].

Enfeksiyonları tedavi etmede kullanılan antimikrobiyal bileşiklerin keşfi, ticarileştirilmesi ve rutin uygulaması modern tıpta devrim yaratmıştır. Antimikrobiyallere kompleks tıbbi yaklaşımların geliştirilmesi için ihtiyaç duyulmaktadır. Bakteriyel patojenler arasında antimikrobiyal dirençteki dikkat çekici artış antimikrobiyallerin tedavilerdeki başarısını tehdit etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) antimikrobiyal direncini 21. yüzyılın en önemli halk sağlığı tehditlerinden biri olarak kabul etmiştir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri, ABD'de yılda en az 23.000 kişinin antimikrobiyal dirençli bir organizmanın neden olduğu bir enfeksiyon sonucu öldüğünü tahmin etmektedir. Antimikrobiyal direncin 2050 yılına kadar yaklaşık 300 milyon erken ölüme ve küresel ekonomiye 100 trilyon dolar kayba neden olacağı tahmin edilmektedir. Antimikrobiyal dirence bileşiğin etki mekanizmasıyla ilişkili gen(ler)de oluşan mutasyonlar ya da yabancı DNA ile gen transferi neden olmaktadır. Antimikrobiyal moleküle karşı bakteri hücrelerinin hayatta kalabilmesi için genlerinde mutasyon meydana gelmektedir [7]. Son yıllarda antimikrobiyallerin yanlış kullanımı *E. coli*'de yaygın kullanılan antimikrobiyallere direncin artmasına neden olmaktadır [8].

Bakteriyel patojenlerin gıda örneklerinde hızlı ve doğru bir şekilde belirlenmesi, hem gıda kalite güvencesi hem de gıda kaynaklı bakteri patojen salgınlarını izlemek için önemlidir [9]. Virülans genlerin tespiti için geleneksel DNA-prob hibridizasyon yöntemleri yerine Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)'nin geliştirilmesi, çalışmaları kolaylaştırmak için bir alternatif olmaktadır [10]. PCR hızlı, spesifik, hassas ve daha

ucuz bir yöntem olduğu için de tercih edilmektedir [11].

Bu tezin amacı kıyma, et, tavuk ve peynir örneklerinden izole edilen *Escherichia coli*'nin *gyrA* (nalidiksik aside direnç geni), *bla_{CTX-M}* (sefotaksime direnç geni), *dhfrV* (trimetoprime direnç geni), *bla_{TEM}* (ampisiline direnç geni), *ereA* (eritromisine direnç geni) antimikrobiyal direnç genlerinin ve *fimH* (Tip 1 fimbriya geni), *fyuA* (yersiniabaktin reseptörü geni), *papG II* (P fimbriya geni), *traT* (lipoprotein geni), *kpsMT II* (kapsüler polisakkarit geni) virülans genlerinin bulunma sıklığının PCR yöntemi kullanılarak moleküler olarak tespit edilmesidir. *Escherichia coli*'nin antimikrobiyal direnç ve virülans genlerinin incelenmesi enfeksiyonların önlenmesi, kontrol altına alınması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) ilk defa 1885 yılında Alman bakteriyolog-çocuk doktoru Theodore von Escherich tarafından bağırsakta keşfedilmiş ve *Bacterium coli commune* adı verilmiştir [12]. Daha sonra 1919'da Chalmers ve Castellani tarafından önerilen *Escherichia* cins ismi ile *Escherichia coli* adını almıştır [13].

E. coli *Bacteria* aleminde, *Negibacteria* alt aleminde, *Proteobacteria* şubesinde, *Gammaproteobacteria* sınıfında, *Enterobacteriales* takımında, *Enterobacteriaceae* ailesinde, *Escherichia* cinsinde yer almaktadır [14].

E. coli çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen, Gram negatif, fakültatif anaerobik, hareketli bir bakteridir [4,15]. Boyutu değişkendir ve genellikle 2-3 x 0,6 µm'dir. *E. coli*' ler normal besin ortamlarında 18-44 °C arasındaki sıcaklıkta büyürler. Nutrient agar besiyeri plaklarında 37 °C'de 24 saat inkübe edilen koloniler renksiz, konveks ve pürüzsüzdür. Et suyu (broth) kültüründe oldukça hızlı büyüme gösterirler [4]. Yaklaşık olarak nötral pH büyümeleri için uygundur [16]. Katı besiyerinde pürüzsüz (S; smooth) ya da pürüzlü (R; rough) koloniler oluştururlar [17].

E. coli' ler şeker fermentasyon testlerinde mannitol, gliserol, ramnoz, glikoz, arabinoz, sorbitol ve maltoz ile asit ve gaz üretirler. Ayrıca laktozu da fermente ederler [4]. *E. coli*' lerin metil kırmızısı testinin, indol testinin, katalaz testinin pozitif, Voges-Proskauer testinin, oksidaz testinin negatif olması önemli biyokimyasal özelliklerindedir. *E. coli*, MacConkey (MC) agarında pembe koloniler, Eozin Metilen Mavis (EMB) agarında karakteristik parlak siyah-yeşil koloniler oluşturur. *E. coli*, Salmonella-Shigella (SS) agarda pembemsi koloniler, Brilliant Green (BG) agarda yeşilimsi sarımsı koloniler, nutrient agarda (NA) dairesel, pürüzsüz ve renksiz koloniler oluşturur [15].

E. coli suşları RAPD-PCR (Rastgele Çoğaltılmış Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile A, B1, B2 ve D olmak üzere 4 ana filogenetik gruba ve A0, A1, B1, B2, B2, D1 ve D2 olmak üzere yedi alt gruba ayrılmaktadır [18].

E. coli suşlarının çoğu insan ve hayvanların bağırsak florasının patojenik olmayan üyeleridir. Ancak bazı suşlar önemli intestinal ve ekstraintestinal hastalıkların nedeni olan virülans faktörlere sahiptirler [12]. Bu faktörler konakçı hücrelerine saldırılmasında ve konakçı immün cevabın üstesinden gelinmesinde kullanılan toksinleri (sitotoksik nekrotizing faktör 1, hemolizin), primer kolonizasyon için kullanılan adezinleri (Dr-antijen spesifik adezinler, S ve F1C fimbriya, P fimbriya, tip 1 fimbriya), çoklu demir kazanım sistemini (yersiniabaktin, enterobaktin ve aerobaktin) ve konakçı savunmasından kaçış mekanizmasını (O spesifik antijen ve kapsül) içermektedirler ve dünya çapında gıda kaynaklı salgın hastalıklara neden olmaktadır [18, 19, 20].

E. coli idrar yolu enfeksiyonu, zatürre, karın içi enfeksiyonları, sistit, yenidoğan menenjit, piyelonefrit (böbrek enfeksiyonu), prostatit, gram-negatif bakteriyemi (bakterilerin kana karışması), kemik ve eklem enfeksiyonları gibi ekstraintestinal enfeksiyonlarının en önemli nedenidir [10, 21].

Ruminantlar önemli patojenik *E. coli* kaynağı olarak rol oynarlar ve genellikle insanları ve hayvanları su, gıda, içecek ve dışkı ile çapraz kontaminasyonla enfekte ederler [22].

Patojenik *E. coli* suşları neden oldukları enfeksiyonların konumuna göre intestinal patojenik *Escherichia coli* ve ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli* (ExPEC) olarak ikiye ayrılmaktadır [23].

2.1.1. Ekstraintestinal Patojenik *Escherichia coli* (ExPEC)

E. coli genellikle kommensal olarak adlandırılmasına rağmen önemli bir grup olan ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli* (ExPEC), intestinal çevrenin dışında hayatta kalma ve kolonizasyon yeteneklerine izin veren özel virülans genler taşımaktadır. ExPEC izolatlarındaki bazı virülans faktörleri, bu bakterilerin kolonileşmesine, konakçı hücrelerini istila etmesine ve gastrointestinal sistem dışında enfeksiyonlara neden olmasına izin vermektedir [24]. ExPEC bağırsakta var olma yeteneğini sürdürürken konakçının kanına, merkezi sinir sistemine ve idrar yoluna yayılması hastalıkla sonuçlanabilmektedir [25]. ExPEC suşları, idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, zatürre, yenidoğan menenjit, derin cerrahi yara enfeksiyonları, vertebral osteomyelit (omurga enfeksiyonu), endovasküler enfeksiyonlar gibi çeşitli enfeksiyonlardan sorumludur [23]. Ayrıca hayvanlarda da ExPEC'in yol açtığı hastalıklardan biri sistemik kolibasilozisdir. Bu hastalık dünya çapında kanatlı hayvan endüstrisinde önemli ekonomik kayıpların nedenidir [26].

Bazı çalışmalar, insan ve tavuklardan izole edilen ExPEC'in virülans genleri arasında benzerlikler bulmuştur. Bu nedenle kanatlı kaynaklı gıdalar insanlarda enfeksiyonlara neden olan ExPEC kaynakları olarak gösterilmiştir [24].

ExPEC'in neden olduğu hastane kaynaklı ve toplum enfeksiyonlarının sayısı dünya genelinde artmaktadır. ExPEC'de bulunan antimikrobiyal direnç genleri halk sağlığı riskinin artmasına neden olmaktadır. ExPEC'lerde 2000 yılından bu yana, geniş spektrumlu sefalosporinler ve florokinolonlar gibi önemli antibiyotik sınıflarına karşı farklı direnç mekanizmaları ortaya çıkarılmıştır [24].

Konakçının enfeksiyon bölgelerine göre çeşitli ExPEC grupları tanımlanmıştır. Bunlar; yenidoğan menenjitine neden olan *E. coli* (NMEC; Neonatal meningitis *Escherichia coli*), idrar yolu enfeksiyonuna neden olan üropatojenik *E. coli* (UPEC; Uropathogenic *Escherichia coli*), sepsis ilişkili *E. coli* (SEPEC; Sepsis-associated *Escherichia coli*), kolibasilozise neden olan kuş-patojenik *E. coli* (APEC; Avian Pathogenic *Escherichia coli*)'dir [24].

2.1.1.1. Üropatojenik *E. coli* (UPEC)

ExPEC'lerin arasında Üropatojenik *E. coli* (UPEC) suşları idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE) birincil nedeni olarak kabul edilmektedir. İYE'ler her yıl 150 milyon insanı etkileyen ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Raporlara göre UPEC dünyadaki hastane kaynaklı İYE'lerin %50'sinden ve toplum kaynaklı İYE'lerin %70-95'inden sorumludur [27]. UPEC, asemptomatik bakteriüri, sistit (mesana iltihabı), piyelonefrit ve prostatit de dahil olmak üzere İYE'lerin en önemli nedenidir [19].

UPEC'in patojenitesinden *kpsMT II*, *fimH* ve *cnfI* genleri sorumlu bulunmaktadır. Kapsüler polisakkarit üretiminden *kpsMT II* geni sorumludur. *fimH* geni bakterinin invazyonuna aracılık etmektedir [18]. *fimH* adezin geninin çalışmaması sonucunda UPEC'in idrar yolunu kolonize etme kabiliyeti büyük ölçüde bozulur [28]. *cnfI* geni ise idrar yoluna yayılmayı ve orda kalıcılığı sağlamaktadır [18].

UPEC'ler arasında antimikrobiyal direnç dünya çapında önemli ölçüde artmaktadır. Bu durum UPEC'lerin önemini vurgulamaktadır [19].

2.1.1.2. Kuş-patojenik *E. coli* (APEC)

Sıcaklığa duyarlı hemaglutinin (Tsh; temperature-sensitive hemagglutinin) proteini kuş-patojenik *E. coli* (APEC) ile karakterize edilmektedir [24]. Sıcaklığa duyarlı hemaglutinin APEC suşlarında düşük sıcaklıklarda (26-30 °C) ifade edilmektedir. Ayrıca APEC suşlarının çoğunda kolisin proteini de bulunmaktadır. Bu protein serum direncinde rol oynamaktadır [29].

APEC'ler solunum yolu enfeksiyonu ile başlayan ve sepsisemi ve kalp, karaciğer, dalak gibi iç organlarda kolonizasyon ile gelişen sistemik bir hastalık olan hava kısı iltihabından sorumludur [30, 31]. APEC'in neden olduğu kolibasillozis kanatlı hayvan endüstrisinde ciddi kayıplara neden olmaktadır. APEC salgınları, koyun sürülerinde de %20'ye varan ölüm oranlarına neden olabilmektedir [31].

2.1.1.3. Menenjit ilişkili *E. coli* (NMEC)

Ciddi nörolojik lezyonlara neden olan menenjit ile ilişkili *E. coli* (NMEC), enfekte olan yenidoğanların %20-40'ının ölümüne neden olmaktadır [31]. NMEC, K1 kapsüler antijenin bulunması ile karakterize edilmektedir [24]. NMEC'de K1 kapsülünün ifade edilmesi NMEC'i kompleman aracılı ölümden ve bakteriyofajlardan korumaktadır. Aynı zamanda NMEC'in beyin mikrovasküler endotel hücrelerinde hayatta kalmasını kolaylaştırmakta ve fagositozdan kaçışını sağlamaktadır [25].

2.1.1.4. Sepsis ilişkili *E. coli* (SEPEC)

İnsan sepsisi ile ilişkili *Escherichia coli* (SEPEC) böbrek epitel hücrelerine yapışabilmektedir ve istila edebilmektedir. Bu durum sepsis gelişimi için önemli olan kan dolaşımına girişi sağlamaktadır. SEPEC suşları kan dolaşımına girdikten sonra uygun şartlar mevcutsa sepsis oluşturur. SEPEC suşlarında tip 1 fimbriya üretiminden sorumlu *fimH* virülans geni bulunmaktadır. Böylece SEPEC suşları D-mannoz varlığında hücrelere yapışır ve istila eder [32].

2.1.2. İntestinal Patojenik *Escherichia coli* (InPEC)

İntestinal Patojenik *Escherichia coli* (InPEC)'nin patotipleri arasında difüze-yapışan *E. coli* (DAEC; Diffusely adherent *Escherichia coli*), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC; Enteroinvasive *Escherichia coli*), enteroagregatif *E. coli* (EAEC; Enteroaggregative *Escherichia coli*), enterohemorajik *E. coli* (EHEC; Enterohemorrhagic *Escherichia coli*), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC; Enterotoxigenic *Escherichia coli*) ve enteropatojenik *E. coli* (EPEC; Enteropathogenic *Escherichia coli*) bulunmaktadır [22].

2.1.2.1. Difüze-yapışan *E. coli* (DAEC)

Difüze yapışan (Diffusely adherent) *E. coli* terimi ilk olarak EPEC benzeri mikrokoloniler oluşturmeyen HEp-2 hücrelerine yapışan *E. coli* suşuna atıfta bulunmak için kullanılmıştır. EAEC'in keşfedilmesiyle birçok araştırmacı DAEC'i ayrı bir kategoride sınıflandırmıştır [33].

Difüze-yapışan *E. coli* (DAEC) patotipi epitelyal hücrelere yapışan suşları içermektedir [34]. DAEC suşları, bakterinin tüm hücre yüzeyini kaplayan difüze-yapışan (DA) model ile tanımlanmaktadır [35]. DA fenotipi ile ilişkili 100 kDa ağırlığında bir dış membran proteini (OMP) bulunmaktadır [33]. DAEC iki yaşından büyük çocuklarda ishale neden olmaktadır [35].

2.1.2.2. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), özellikle gelişmekte olan ülkelerde dizanteri nedenidir. Bu bakteriler özellikle kalın bağırsak mukozasına bağlanır ve hücrelerin endositoz ile istila edilmesine neden olur [34].

EIEC'nin kolonizasyonu ve gastrointestinal bölgede hayatta kalması 220 kb büyüklüğünde pInv plazmidinin varlığına bağlıdır. 38 gen içeren pInv plazmidinin 31 kb'lık bir parçası tarafından kodlanan proteinler önemlidir. Bu parçada bakteri invazyonu ve kaçışı, hücre yayılması, otofajinin engellenmesi, konakçı immün tepkisinin düzenlenmesi görevleri olan genler bulunmaktadır. Bu genlerden birkaçı *ipaH*, *ial*, *icsA*'dır. *ipaH* ve *ial* genleri invazyonda görev almaktadır. *icsA* geni, patojenin intraselüler yayılımı için EIEC'de ifade edilmektedir [34].

EIEC suşlarını tanımlamak için kullanılan testlerden Sereni testi pozitif, lizin dekarboksilaz negatiftir [34].

2.1.2.3. Enteroagregatif *E. coli* (EAEC)

Agregatif yapışma özelliği bulunan *E. coli*'leri tanımlamak için, araştırmacılar enteroadherence-aggregative *E. coli* (EaggEC) adını önermişler ve enteroagregatif *E. coli* (EAEC) olarak adlandırmışlardır [33]. Enteroagregatif *E. coli* (EAEC) epitel hücre kültüründe karakteristik agregatif yapışma (AA)'nın gösterilmesi ile tanımlanmaktadır. Standart AA, epitelyal hücrelerin yüzeyinde yığılmış tuğla düzeninde karakterize edilmektedir [34].

EAEC'de *agg*, *aap*, *Pic*, *SigA* ve *SepA* virülans faktörleri bulunmaktadır. *agg* geni AA fenotipinin oluşmasında ve biyofilm oluşumunda görev alan agregatif yapışma fimbriyalarını (AAF/I, AAF/II, AAF/III) kodlamaktadır. AAF/I ve AAF/II kolonizasyonun başlamasını sağlamaktadır. *aap* geni, dispersin olarak adlandırılan bir antiagregasyon proteinini kodlamaktadır. Bu protein AAF'ın intestinal mukozada dağılmasında görev almaktadır. *Pic*, hemaglutinasyonda, mukus hipersekresyonunda, farelerde intestinal kolonizasyonda, immün sistemden kaçmada rol oynayan birçok görevi olan bir proteindir. *SigA* ve *SepA* Shigella ototransporter proteinleri mukozal hasara ve kolonizasyona neden olmaktadır [34]. Ayrıca *astA* gen ürünü enteroagregatif ısı sabit toksin 1 (EAST 1; enteroagregatif heat stable toksin 1) sekresyonunda görev almaktadır [33, 34].

İshale neden olan EAEC, fekal-oral yolla, gıdalar veya kirli su ile bulaşmaktadır. Gıda kaynaklı birçok diyare salgının nedeni olarak gösterilmiştir [34].

2.1.2.4. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC/STEC/VTEC)

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) en önemli gıda kaynaklı patojenlerden biridir. Özellikle kıyma ve et gibi hayvansal gıda kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkilidir. Az pişmiş kıyma ve et tüketimi EHEC'in en yaygın bulaşma yoludur. EHEC yüzünden binlerce hasta, hastaneye yatış ve yüzlerce ölüm rapor edilmiştir. Hemorajik kolit (HC) ve hemolitik üremik sendrom (HUS), EHEC'in neden olduğu kronik ve ölümcül hastalıklardandır [36].

EHEC suşları, ishal ve gıda zehirlenmesi tedavisinde yaygın olarak kullanılan kinolonlar, aminoglikozitler, makrolidler, sefalosporinler, sülfonamidler, florokinolonlar ve tetrasiklin gibi antibiyotik gruplarına karşı yüksek direnç göstermiştir [3].

EHEC patojenitesinde *stx*, *ehx*, *eae* genleri yer almaktadır. EHEC *stx* geni ile karakterize edilmektedir. *E. coli* O157:H7 suşunda *stx* gen ürünü Shigella-benzeri toksin olarak tanımlanmıştır. Bu toksin HUS ve HC hastalıklarında bağırsak ve böbrek epitel hücrelerinde hasara neden olan yaygın virülans faktörlerdendir. Shigella-benzeri toksinine (SLT) vero hücre kültürüne sitotoksik etki gösterdiğinden verotoksin de (VT) denir. EHEC, verotoksijenik *E. coli* ya da Vero sitotoksin-üreten *E. coli* (VTEC) ismine benzer şekilde Shiga toksin-üreten *E. coli* (STEC) olarak da adlandırılmaktadır. *stx* gen ailesi *stx1* and *stx2* olarak adlandırılan iki ana gruba ayrılmaktadır. EHEC yalnız birini ya da her ikisini üretebilmektedir. EHEC 60 MDa büyüklüğündeki plazmidde yer alan *ehx* geni enterohemolizini üretmektedir. Enterohemolizinin eritrositleri parçalamada görev aldığı düşünülmektedir. Böylece serbest kalan hem ve hemoglobini *E. coli* O157:H7 demir kaynağı olarak kullanır. *eae* geni ise intimini üretmektedir. İntimin bağırsak kolonizasyonunda rol oynamaktadır [33].

2.1.2.5. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), kolonizasyon faktör (CF)'leri ve en az iki enterotoksinden biri olan LT (heat-labile toxin; ısıya duyarlı toksin) ve ST (heat-stabile toxin; ısıya dayanıklı toksin)'den birinin üretilmesi ile karakterize edilmektedir [34].

Kolonizasyon faktörleri (CF) ETEC'lerin ince bağırsakta kolonize olmalarını sağlamaktadır. CF'ler patojenitede rol oynayan fimbriyaların sentezlenmesinden de sorumludurlar [33]. ETEC suşları, bağırsak mukozasına bağlandıktan sonra enterotoksinleri üretir [34]. Isıya duyarlı toksinler (LT) *elt* geni tarafından kodlanmaktadır. LT'ler bağırsak villus hücreleri tarafından NaCl absorpsiyonunu

engellerler ve Cl⁻ iyonlarının salgılanmasını uyarırlar. Bu durumun sonucunda bağırsağa fazla sıvı salgılanarak ishal oluşmaktadır [33]. Isıya dayanıklı toksinler (ST) *estA* geni tarafından kodlanmaktadır [37]. ST'ler LT'ye göre daha küçük moleküllerdir. Yapısı ve etki mekanizması bakımından STa ve STb olarak adlandırılan iki ST sınıfı bulunmaktadır. STa klorür iyon salgılanmasını, STb ise bikarbonatın bağırsak hücrelerinden salgılanmasını uyarır. STa, NaCl absorpsiyonunu engellemektedir. STa'nın aksine STb, villus epitel hücrelerinin kaybına neden olabilmektedir [33]. Ayrıca bu toksinler su-iyon dengesizliğine yol açarak ETEC patojenitesine neden olmaktadır [34].

Yapılan çalışmalarda ETEC suşlarının teşhisi için LT ve ST tespitine ek olarak, *tia* ve *leoA* virülans genleri PCR ile tespit edilmektedir [34]. *tia* geni Tia dış membran proteinini kodlamaktadır. Tia, konakçı hücre yüzeyi proteoglikanlarıyla etkileşime girer ve epitelyal hücrelere yapışmayı ve onların istilasını düzenler [38]. *leoA* geni LT salgılanmasında ve bakteriyel hücre yüzeyinden salınmasında görev almaktadır [39].

ETEC, gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda ve bu bölgelerdeki yolcularda ishalin önemli bir patojeni olduğu için çiftçilere ve sektöre ekonomik bir yük olmaktadır [34].

2.1.2.6. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) intestinal epitelyumda yapışma ve bozma lezyonu (AE; attaching and effacing) üretmektedir. Shiga toksinleri, ısıya duyarlı (LT) ve ısıya dayanıklı (ST) olarak bilinen enterotoksinleri üretememektedir [34].

EPEC suşları genom ve virülans mekanizmasının daha iyi anlaşılması için tipik EPEC (tEPEC) ve atipik EPEC (aEPEC) olarak alt sınıflara ayrılmaktadır. Tipik EPEC suşları insanlarda bulaşıcı ishale neden olan EPEC yapışma faktör (EAF) plazmidi (pEAF) olarak bilinen büyük bir plazmide sahiptir. pEAF'ta bulunan *bfp* geni boncuk şeklinde pilus (BFP) denilen tip IV fimbriyayı kodlamaktadır. pEAF'ta

bulunan *per* geni plazmid kodlayan regülatör olarak adlandırılan transkripsiyonel aktivatörünü kodlamaktadır. Bu genler EPEC'lerin patojenitesinde yer almaktadır. Bu plazmid atipik EPEC'de bulunmamaktadır. Atipik EPEC'de bulunan flagellin proteini *FliC*'nin hücresel fibronektine bağlanmaya aracılık edebileceği öne sürülmektedir. EHEC suşlarında biyofilm oluşumunda yer alan *ehaC* geninin kodladığı ototransporter (AT) proteini, aEPEC'te tEPEC'e göre daha sık bulunmaktadır [34].

EPEC suşları genellikle çocuklarda ishale neden olmaktadır. EPEC salgınları sıcak aylarda daha fazla görülmektedir. Kirli gıda ve su yoluyla bulaşabilmektedir [34].

2.2. VİRÜLANS GENLER

Virülans gen, bir organizmanın genomunda aktif veya pasif olarak bulunan, bir enfektifin patojenitesinden sorumlu olan genlerdir [40]. Bakterilerde bulunan virülans genler patojenik bakterinin hastalık yapma derecesini ifade eden proteinleri kodlamaktadırlar [18, 41].

E. coli'de bulunan virülans genler; kolonizasyon için adhesiv faktörleri, demir alım sistemlerini, konakçı hücrelerini istila etmek ve konakçı immün sistemin tepkisini aşmak için kullanılan toksik maddeleri, polisakkarit kapsülleri kodlamaktadır [18]. *fimH*, *fyuA*, *kpsMT II*, *traT*, *papG II* *E. coli*'de bulunan bazı önemli virülans genlerdendir.

2.2.1. *fimH* Geni

Mikrobiyal patojenlerin konakçı hücre yüzeyine yapışması kolonizasyonları için en önemli adımdır. Bu yapışma enfeksiyon oluşumu için önemli bir virülans faktördür. Kolonizasyon bakterinin, mukozadaki hücrelerin ifade ettiği reseptörlere bağlanması ile başlar. Gram negatif bakterilerin çoğunun ürettiği fimbriyalar epitel hücre yüzeyine spesifik bağlanmalarını sağlar [42]. *E. coli* suşlarının çoğunda ifade edilen tip 1 fimbriyalar, bakterilerin kolonizasyonu için D-mannoz içeren yapılara

bağlanmayı sağlar. Üropatojenik *E. coli* suşlarında virülans faktörleri olarak tip 1 fimbriyalar rol oynar [43].

fimH virülans geni, tip 1 fimbriyanın mannoz-spesifik veya reseptör-spesifik FimH adezini sentezinden sorumludur. Adezin patojenin, konakçının spesifik hücre yüzeyi bileşenlerine yüksek afiniteli bağlanmasını sağlayan proteindir [42]. Yani tip 1 fimbriyanın bir bileşeni olan FimH proteini D-mannoz içeren glikoprotein reseptörlerini bağlar [43, 44]. Ayrıca FimH mesane epitel hücrelerine, mast hücrelerine ve makrofajlara bakteriyel girişi sağlayan bir istilacı olarak görev yapar [28]. Yapılan araştırmalar sonucu FimH, UPEC'in neden olduğu idrar yolu enfeksiyonları için bir aşı adayı olarak gösterilmiştir [42].

2.2.2. *fyuA* Geni

Demir elektron taşıma zinciri ve çeşitli diğer enzimler için kofaktör olarak kilit rol oynamaktadır [45]. Hem patojenik hem de patojenik olmayan bakteriler demir alımı için kompleks sistemleri kodlamaktadır. Demir doğal şartlarda çözünmez, aerobik şartlarda ve memeli konakçılarında proteinlere bağlı bulunan temel bir metaldir. Bakterilerde demir alımı siderofor denen küçük demir şelatlayıcı moleküllerin sentezi, gönderimi ve alımı yoluyla sağlanmaktadır [46]. Sideroforlar kozmetik, tarım, sağlık gibi biyoteknolojik alanlarda kullanılmaktadır [47]. Gram negatif bakterilerde demir bağlı sideroforlar bakteriyel dış membran reseptörleriyle demiri almaktadır [45]. *fyuA* virülans geni ferrik yersiniabaktin alımı için yersiniabaktin reseptörü FyuA'yı kodlamaktadır. *fyuA* geni, *Enterobacteriaceae*'nin birçok üyesinde virülansla ilişkilendirilmektedir [48].

UPEC suşlarının idrar yollarında demir alımı hayatta kalması ve patogenezi için önemli bir faktördür. UPEC suşlarının yersiniabaktin, salmoşelin, enterobaktin ve aerobaktin olmak üzere dört farklı reseptörü üretebilme yeteneği bulunmaktadır. *fyuA* geni piyelonefrit ve sistisis hastalarından izole edilen UPEC izolatlarında bulunmaktadır. FyuA siderofor reseptörü UPEC izolatları için ideal bir aşı hedefi olarak araştırılmaktadır [27].

FyuA, insan idrarında idrar yolu enfeksiyonuna neden olan *E. coli* ile etkili biyofilm oluşumu için gerekmektedir. Biyofilmler genellikle birçok sağlık problemleriyle ilişkilendirilmektedir. Bunlar; idrar yollarında bakteriyel biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlar, kronik sistit, prostatit ve kateter, stent ile ilişkili enfeksiyonlardır. Hemen hemen tüm tıbbi implantlarda bakteriler kolonileşme eğilimindedir ve oluşan biyofilm tekrarlayan enfeksiyonların nedeni olmaktadır. Bakteriler, bakteriyel biyofilm ilişkili enfeksiyonlarda konakçı immün savunma mekanizmasına dayanıklılık ve antibiyotiklere, biyositlere ve hidrodinamik kuvvetlerine karşı son derece direnç göstermektedir [48].

2.2.3. *kpsMT II* Geni

kpsMT II virülans geni kapsüler polisakkarit sentezinde görev alır [18]. Bakteriyel kapsüler polisakkaritler özellikle enfeksiyon sırasında bakteriyi konakçının bağışıklık sistemine karşı olmak üzere birçok çevresel basınca karşı koruyan başlıca virülans faktörlerdir. Bu nedenle kapsüler polisakkaritler mikrobiyal enfeksiyonların tedavisi için geliştirilen ilaçların hedefidir [49].

Kapsüler polisakaritler (CPSs; capsular polysaccharides) ve O-polisakaritler *E. coli*'nin ana yüzey lipopolisakaritlerindedir. 37 °C'de ifade edilmektedirler. Bunlar türe özgüdür ve sırasıyla K- ve O- antijenlerini oluştururlar. K antijeni fagositoza karşı dirençten, O antijeni ise kompleman-aracılı serum direncinden sorumludur. *E. coli*'de şeker bileşimindeki farklara ve bağlanma özgülüğüne göre 167 farklı O-serotipi ve 80'den fazla K-antijeni bulunmaktadır [50]. Bunlar serolojik, genetik ve biyokimyasal özelliklerine göre dört ana gruba ayrılır. Bunlar grup I kapsülü, grup II kapsülü, grup III kapsülü ve grup IV kapsülüdür [51]. Grup II kapsülü idrar yolu enfeksiyonlarında önemli rol oynamaktadır [52]. Grup II antijenlerinden olan K5 polisakkariti K5 gen kümesi tarafından kodlanmaktadır. Bu gen kümesinin *kpsMT* bölgesi grup II kapsüler polisakkaritlerin hücre yüzeyine taşınmasında rol oynayan proteinleri kodlamaktadır [51].

2.2.4. *traT* Geni

Gram negatif bakterilerin yakın çevreleri ile etkileşimlerinde dış membranlarındaki bileşenleri rol oynar [53]. Bu bileşenler besinlerin alımını sağlar, kolisinler ve bakteriyofajlar gibi öldürücü ajanlar tarafından reseptör olarak kullanılırlar [54]. Bu bileşenlerin özellikle hastalık oluşum sürecinde görev alması onları önemli yapar. Bu bileşenlere TraT lipoproteini örnek verilebilir. *traT* virülans geninin kodladığı TraT proteini yüzey dışlama mekanizmasında görev alır. Yüzey dışlama mekanizması aynı plazmidi taşıyan hücreler arasında verimsiz çiftleşmeyi önler. TraT, hücrelerin stabil çiftleşme agregaları oluşumunu engelleyerek konjugasyonu önler [53].

Serum birçok bakteri için öldürücü maddeler içerir ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı konakçı savunmasını oluşturur. Patojenik olmayan ve invaziv olmayan patojenik bakteriler genellikle seruma karşı duyarlıyken, invaziv patojenik bakteriler çoğunlukla seruma karşı yüksek direnç gösterir [55]. TraT bakterilerin kompleman aracılığıyla öldürülmesini engelleyerek orta derecede serum direncine de neden olur [52].

2.2.5. *papG II* Geni

pap virülans genleri piyelonefritle ilişkili p fimbriyaları kodlamaktadır [56]. P fimbriyalar P kan grubu antijeninin α -D-Galp-(1-4)- β -D-Galp karbonhidrat dizisini tanıır ve bağlar [42]. Bu diziyi içeren glikolipitler *E. coli* suşlarının bağlanmasını sağlayan reseptörlerdir. Bu glikolipitler insan üroepitelyal hücre membranının küçük bir bileşeni olarak insan renal hücrelerinde baskın olarak bulunur. Bu nedenle P fimbriyalar piyelonefrit hastalarında yaygın olarak bulunur. P fimbriyalar, idrar yolu enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli rol oynar. Çünkü insan idrar yolu epitel hücrelerinde Gal-Gal-spesifik bakteriyel bağlanmayı sağlarlar. Bunun sonucunda bakteriyel kolonizasyonu ve inflamasyonu uyarırlar. P fimbriya *E. coli*'nin normal konakçı savunma sisteminin bazı bileşenlerinin üstesinden gelmek için de gereklidir [56].

P fimbriyada *papG* virülans geni tarafından kodlanan PapG, bağlanmayı sağlayan asıl moleküldür. *E. coli* suşlarının konakçıya bağlanmasında görev alan α -D-galatopiranozil-(1-4)- β -D-galaktopiranozidi içeren glikolipitler esas reseptörlerdir. PapG bu reseptörlere bağlanır. P fimbriya ucundaki PapG adezinin ifadesi doku ve konakçı özgüllüğünü belirleyebilir [44, 56]. PapG piyelonefrite neden olan bir virülans faktördür ve insan ve fare bağırsakları tarafından salgılanan sürfaktan benzeri parçacıkları bağlayabilir. Bu parçacıklarla PapG arasındaki etkileşimlerin sonucunda bağırsak florasında UPEC'in kalıcılığı kolaylaşabilir [57]. PapG'nin, Gal (α 1-4) Gal içeren izoreseptörlerin farklı alt birimlerine bağlanan papG I, papG II ve papG III moleküler varyantları *papG I*, *papG II* ve *papG III* olmak üzere üç allel tarafından kodlanmaktadır [58, 59]. *papG II* akut piyelonefritli hastalarda baskın olarak bulunmaktadır [58].

2.3. ANTİMİKROBİYALLER

Antimikrobiyaller (antibiyotikler) mantar ya da çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilen, biyolojik veya sentetik kaynaklı, düşük konsantrasyonlarda mikroorganizmaların büyümesini engelleyen veya mikroorganizmaları öldüren maddelerdir [60, 61]. Antimikrobiyal ismi yaşama karşı anlamında kullanılan antibiyosiz kelimesinden köken almaktadır. Geçmişte antimikrobiyaller bir mikroorganizma tarafından üretilip diğer mikroorganizmaya toksik etkili organik bileşik olarak düşünülmüştür. Fakat daha sonra bu tanım kısmen ya da tamamen sentetik yollarla üretilen antimikrobiyalleri de kapsayacak şekilde değiştirilmiştir [62].

Antimikrobiyaller; hücre duvarı sentezini, nükleik asitlerin yapısı ve işlevini, protein sentezini engelleyerek, hücre zarı yapısı ve işlevini bozarak ve anahtar metabolik yolları tıkayarak etki etmektedirler [61].

Antimikrobiyaller çeşitli kriterlere göre sınıflandırılmaktadırlar. Günümüzdeki en yaygın bilimsel sınıflandırma kimyasal yapılarına, etki güçlerine ve etki mekanizmalarına göre sınıflandırmadır [60].

Antimikrobiklerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması şu şekildedir:

I- β - LAKTAMLAR

1) Penisilinler:

- Doğal penisilinler: Penisilin G, Penisilin V
- Penisilinaza dayanıklı penisilinler: Oksasilin, Nafsilin, Metisilin
- Aminopenisilinler: Ampisilin, Amoksisilin, Bakampisilin [61, 64]

2) Sefalosporinler

- 1. kuşak: Sefazolin
- 2. kuşak: Sefoksitin, sefotetan, sefuroksim
- 3. kuşak: Sefotaksim, seftriakson, seftazidim
- 4. kuşak: Sefepim
- 5. kuşak: Seftarolin [63]

3) Monobaktamlar: Aztreonam

4) Karbapenemler: Meropenem, Faropenem, İmipenem, Doripenem [61]

5) Beta-laktam/Beta Laktamaz İnhibitör Kombinasyonları: Sulbaktam, Klavulanik asit, Tazobaktom [64]

II- KİNOLONLAR

- 1. kuşak: Oksolinik asit, Nalidiksik asit, Sinoksasin
- 2. kuşak: Siprofloksasin, Ofloksasin, Norfloksasin, Lomefloksasin, Enoksasin
- 3. kuşak: Levofloksasin, Sparfloksasin,
- 4. kuşak: Moksifloksasin, Gatifloksasin [65]

III- MAKROLİDLER: Eritromisin, Azitromisin, Klaritromisin, Diritromisin, Roksitromisin [61]

IV- SÜLFONAMİDLER: Sülfametoksazol, Sülfadiazin, Sülfizoksazol, Sülfametizol [66]

V- AMİNOGLİKOZİTLER: Netilmisin, Amikasin, Tobramisin, Gentamisin [61]

VI- TETRASİKLİNLER: Doksisiklin, Minosiklin

VII- GLİKOPEPTİTLER: Vankomisin, Teikoplanin

VIII- OKSAZOLİDİNONLAR: Linezolid [66]

2.3.1. β -Laktamlar

β -laktam halkasına sahip β -laktamlar bakteri hücre duvarının biyosentezini engelleyen antimikrobiklerdir. Penisilin bağlanma proteinleri (PBP) denen transpeptidaz enzimlerinin kovalent inhibitörleridir. Bu enzimler hücre duvarının peptidoglikan tabakasında bulunan pentapeptitlerin çapraz bağlama reaksiyonunu katalize ederler [67]. β -laktamlar DD-peptidaz olarak adlandırılan D-alanil-D-alanin karboksipeptidaz-transpeptidaz ile çok spesifik olarak etkileşirler [68]. Bunun sonucunda hücre duvarında peptidoglikan tabakanın çapraz bağlanması önlenir ve hücre ölür [63].

β -laktam halkasına bağlı yan zincirlere ve diğer halkalara göre penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve β -laktam/ β laktamaz inhibitör kombinasyonları olmak üzere beş temel sınıfa ayrılırlar [64].

2.3.1.1. Penisilinler

Penisilin 1928'de İngiliz bakteriyolog Sir Alexander Fleming tarafından keşfedilen ilk antimikrobiyaldir [62]. Penisilinler hücre duvarı sentezinin son adımını katalize eden transpeptidazı inhibe ederek bakterileri öldürmektedir [69]. Penisilinlere ampisilin, metisilin ve amoksisilin örnek verilebilir [61]. Ampisilin farklı yan

zincirlerle yarı sentetik olarak geliştirilmiştir. Bu yan zincirler, bakteri hücre duvarında antimikrobiyalin hareketini kolaylaştırmakta ve bakterinin ürettiği enzimlerden kaçışı sağlamaktadır [62]. Ampisilin *Enterobacteriaceae* Gram negatif organizmaların hücre duvarındaki porin kanallarından geçebilmektedir. Bu durum *E. coli*'ye karşı aktiviteye sahip olmasını sağlamaktadır [63].

2.3.1.2. Sefalosporinler

Sefalosporinler farklı penisilin bağlayıcı protein (PBP)'lere bağlanmayı sağlayan çeşitli yan zincirlere sahip antimikrobiyallerdir. Bu yan zincirler sefalosporinlerin Gram negatif bakterilere girmesini de kolaylaştırır [62]. Sefalosporinler bakteri hücre duvarında yer alan PBP'lere bağlanırlar ve bakteri hücre duvarının peptidoglikan tabakasının sentezini engellerler. Bunun sonucunda da hücre lizise uğrar [70]. Sefalosporinlere sefotaksim, sefazolin, sefoksitin, sefepim örnek verilebilir [63].

2.3.1.3. Monobaktamlar

Monobaktamlar yapısında β -laktam halkasına ekli başka halka bulunmayan β -laktam grubudur. Monobaktamlara örnek olarak aztreonam verilebilir. Gram negatif bakterilere karşı güçlü etki gösterirler. Gram pozitif ve anaerob bakterilere karşı etkileri yoktur. Aztreonam piyelonefrit ve diğer üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir [64].

2.3.1.4. Karbapenemler

Karbapenemler diğer β -laktamlar gibi β -laktam halkasına sahiptirler. β -laktamaz enzimlerine karşı dayanıklıdırlar. Karbapenemlere örnek olarak imipenem, meropenem verilebilir [64]. β -laktamlar arasından, karbapenemler Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı en yüksek etkiye sahiptirler [62]. Gram negatif bakteremi, komplike üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır [64].

2.3.1.5. β -Laktam/ β -Laktamaz İnhibitör Kombinasyonları

β -laktam/ β -laktamaz inhibitörleri de β -laktam halkasına sahiptirler. Tek başlarına antimikrobiyal etkileri çok az ya da hiç yoktur. Örnek olarak sulbaktam, klavulanik asit, tazobaktom verilebilir. β -laktamazlar β -laktam antimikrobisyonlarının etkisini engelleyen enzimlerdir. Bu nedenle β -laktamaz inhibitörleri geliştirilmiştir [64].

2.3.2. Kinolonlar

Kinolonlar yaygın olarak kullanılan sentetik antimikrobisyonlardır [71]. Kinolonlar bakteri DNA giraz (topoizomeraz II) ve topoizomeraz IV enzimlerinin çalışmasını engellerler [72]. Topoizomeraz IV replikasyon sırasında oluşan yavru DNA iplikçiklerinin birbirinden ayrılarak yavru hücrelere aktarılmasında rol oynar [73]. Gram pozitif bakterilerde kinolonların hedefi topoizomeraz IV enzimleridir. Kinolonların topoizomeraz IV'ü inhibe etmesi sonucunda bakterinin bölünmesi sırasında yeni oluşan DNA'nın yavru bakterilere aktarılması engellenir. DNA giraz ise bakteri DNA'sının süpersarmal oluşturarak, bakteri sitoplazması içine sığdırılmasında görev alır. Ayrıca DNA giraz, replikasyon ve transkripsiyon için DNA iki zincirini kırarak negatif sarmallaşma ve sonra kırılan zinciri tekrar bağlayarak pozitif süpersarmallaşma sağlar [72]. DNA giraz *gyrA* ve *gyrB* gen ürünleri iki A ve iki B alt birimlerinden oluşan tetramerik (A_2B_2) bir enzimdir [71]. A alt birimi DNA'nın kırılmasında ve birleşmesinde rol oynamaktadır [74]. *E. coli* gibi Gram negatif bakterilerde kinolonlar için ana hedef DNA girazdır. Kinolonlar DNA giraz-DNA kompleksine bağlanırlar ve DNA giraz-kinolan-DNA üçlü kompleksini oluştururlar [71]. Bunun sonucunda DNA giraz çalışamaz hale gelir. Böylece bakteri DNA'sı bakteri içine sığamayacak kadar uzar, ve bakterinin şekli bozulur. DNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonu engellenir, bakteri hücresi ölür [72]. Kinolonlara nalidiksik asit, ofloksasin ve levofloksasin örnek verilebilir [65].

2.3.3. Makrolidler

Makrolidler büyük bir lakton halkası ve buna bağlı bir veya birkaç şeker molekülü (L-kladinoz, D-desozamin) içeren antimikrobiyallerdir [62,75]. Makrolidler bakteriyel protein sentezini etkili bir şekilde engelleyerek mikroorganizmaları öldürürler [62]. Makrolidler bakteriyel ribozumun 50S büyük alt biriminin 23S ribozomal RNA'sına bağlandığı için taşıyıcı RNA'nın bağlanmasını engeller [76, 77]. Bunun sonucunda protein sentezinde polipeptit zincirlerine aminoasit eklenmesi önlenir [62].

Makrolidlere eritromisin, azitromisin, klaritromisin örnek verilebilir. 1952 yılında topraktan izole edilen *Streptomyces erythreus* suşundan elde edilen eritromisin, makrolidlerin ilk üyesidir [77]. Eritromisin spektrum olarak penisilin G'nin alternatifi olmaktadır. Penisiline dirençli bakterilere karşı da etkisi bulunmaktadır [62, 77].

2.3.4. Sülfonamidler

Sülfonamidler anilin boyalarından köken alan, para-aminobenzen-sülfanilamid kimyasal yapısında, sentetik antimikrobiyallerdir [78]. Dihidropteroat sentaz (DHPS; Dihydropteroate synthase) enziminin çalışmasını engelleyerek bakterilerde DNA sentezini inhibe ederler. Çünkü bu enzim DNA sentezi için gerekli olan folik asit sentezinde görev alır [79, 80]. Birçok mikroorganizmada nükleik asitlerin sentezinde görev alan bazı enzimlerin çalışması folik aside bağlıdır. Folik asidi memeliler dışardan alır, bakteriler ise kendileri sentezlerler. Bakteriler folik asidi sentezleyebilmek için para-aminobenzoik aside (PABA) gereksinim duyarlar. PABA'nın kimyasal yapısı sülfonamidlerin yapısına benzediği için sülfonamid PABA'nın yerine geçer ve folik asit sentezi engellenir. Böylece bakterilerin üremesi durur ve sülfonamid bakteriyostatik etki gösterir. Vücudun bağışılık sistemi tarafından üremesi duran bakteriler yok edilir. Bakterilerin gelişme dönemlerinde bakteriye besin girişi fazla olduğundan bu dönemde daha fazla etkilidirler.

Sulfonamid türevlerine sulfametoksazol, sulfizoksazol ve sulfadiazin örnek olarak verilebilir [78].

Sulfonamidler trimetoprim ile beraber bakteriyel ve protozoal enfeksiyonların kontrolünde kullanılmaktadır [78]. Trimetoprim (TMP), dihidrofolat redüktaz enzimini (DHFR; dihydrofolate reductase) inhibe ederek bakteriyel DNA sentezini engelleyen sentetik antimikrobiklerdir [81, 82]. Bu enzim dihidrofolatın tetrahidrofolata indirgenmesini katalizler [82]. TMP, dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ettiği için folik asit sentezi engellenir ve bakteriyostatik olarak etki gösterir [61, 81]. Dihidrofolat redüktaz enzimi hem insanlarda hem de *E. coli*'de bulunur. *E. coli*'de TMP'nin DHFR enzim afinitesi insanlardakine göre daha fazladır. Bunun sonucunda TMP *E. coli*'yi hedef alır [82].

2.3.5. Aminoglikozitler

Aminoglikozitler glikozidik olarak iki amino şekere bağlı siklik amino alkol olan antimikrobiklerdir [66]. Aminoglikozitler bakteriyel ribozomun 30S küçük alt biriminin 16S ribozomal RNA'sına bağlanıp protein sentezini engellemesiyle bakterisidal etki gösterirler [83]. Bu grupta ilk geliştirilen antimikrobiyal, *Streptomyces griseus*'tan izole edilen streptomisin'dir. Diğer önemli aminoglikozitler ise kanamisin, tobramisin, gentamisin, dihidrostreptomisin, amikasin ve neomisin'dir [84].

2.3.6. Tetrasiklinler

Tetrasiklinler naftasen halka sistemi taşıyan geniş etkili antimikrobiklerdir [66]. Bakteriyel ribozomun 30S küçük alt birimine bağlanarak amino asitlerin açılmasını engeller ve bunun sonucunda peptid zincirlerinin oluşmasını önlerler [66, 85]. Böylece protein sentezini engelleyerek bakteriyostatik etki gösterirler [85]. Tetrasiklinlere doksisisiklin ve minosiklin örnek verilebilir. [66]

2.3.7. Glikopeptitler

Glikopeptitler hücre duvarı sentezini engeleyen antimikrobiyallerdir. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında yer alan peptitlerin terminal D-alanil-D-alanilin dizisine bağlanarak transglikolizasyon reaksiyonunu ve peptidoglikan oluşumunu engeleyerek bakterisidal etki gösterirler. Gram negatif bakterilerin lipit tabakalarından geçememelerinden dolayı onlar üzerinde etki edemezler. Glikopeptitlere vankomisin ve teikoplanin örnek verilebilir [86].

2.3.8. Oksazolidinonlar

Oksazolidinonlar ribozomal protein sentez inhibitörü olan antimikrobiyallerdir. Oksazolidinonların ilk üyesi olan linezolid, bakteriyel protein sentezini ribozomun 50S büyük alt biriminin 23S ribozomal RNA'sına bağlanarak engeller [87]. Linezolid de diğer protein sentez inhibitörlerinin çoğu gibi bakteriyostatik etki gösterir [88].

Antimikrobiyaller, mikroorganizmalar üzerindeki etki güçlerine göre de sınıflandırılmaktadır. Antimikrobiyaller, etki güçlerine göre bakteriyostatikler ve bakterisidler olarak sınıflandırılmaktadır. Bakteriyostatikler, bakteri hücrelerinin üremesini ya da gelişmesini önlerler. Bu durumda bakteriler, vücudun savunma mekanizmaları tarafından kolaylıkla yok edilirler. Bakteriyostatik sınıfında tetrasiklinler, mikonazol, sülfonamidler, amfenikoller, linkozamidler ve metronidazol yer almaktadır. Bakterisidler ise bakteri hücrelerinin ölmesine neden olurlar. Bakterisidler sınıfında β -laktamlar (penisilinler, sefalosparinler, karbapenemler, monobaktamlar, β -laktamaz inhibitörleri), florokinolonlar, polipeptitler, teikoplanin, rifamisin, vankomisin yer almaktadır [60].

Antimikrobiyaller etki mekanizmalarına göre ise 5 gruba ayrılmaktadırlar (Şekil 2.1). Bunlar;

I- Bakteri hücre duvar sentezini bozan ve litik enzimleri aktive eden antimikrobiyaller: Bakteri hücre duvarı sentezi için gerekli olan peptidoglikan

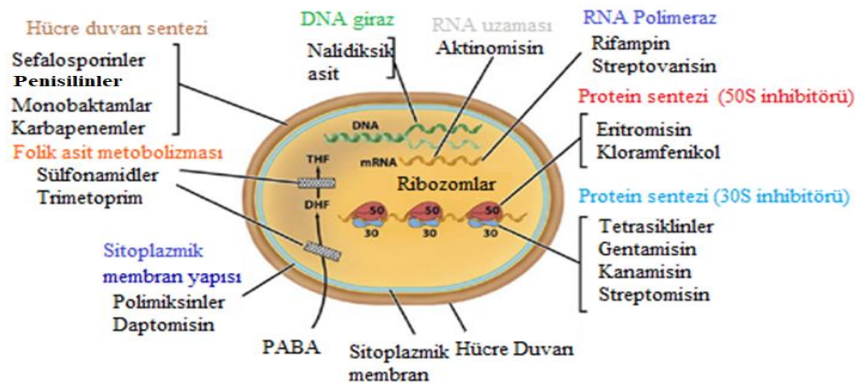
tabakasının sentezlenmesini engellerler. Bu grup antimikrobiyalere örnek olarak β -laktamlar (penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler), siklosein, ristosetin, basitrasin, teikoplanin ve vankomisin örnek verilebilir [60, 62].

II- Hücre zarı yapısını ve işlevini bozan antimikrobiyaller: Bakteri hücre zarındaki farklı yapılara zarar verirler. Bu grup antimikrobiyalere örnek olarak polimiksinler ve daptomisinler verilebilir [62].

III- Ribozomlarda protein sentezini bozan antimikrobiyaller: Bakteriye ribozomun 30S ya da 50S alt birimlerine bağlanarak protein sentezini engellerler. Bu grup antimikrobiyalere örnek olarak tetrasiklinler, makrolidler, aminoglikozitler, linkozamidler, amfenikoller ve füsodik asit verilebilir [60, 62].

IV- Bakteri genetik materyali üzerine etki yapan antimikrobiyaller: DNA ve RNA sentezini bozarlar. Bu grup antimikrobiyalere örnek olarak kinolonlar, aktinomisetler, rifamisinler, metronidazol, mitomisinler, bleomisin, nalidiksik asit, doksorubisin, asiklovir, dounorubisin ve metotreksat verilebilir [60].

V- Ara metabolizmanın bozulmasına neden olan antimikrobiyaller: Bakteriler için gerekli folik asit gibi bazı maddelerin sentezini inhibe ederler [89]. Bu grup antimikrobiyalere örnek olarak sülfonamidler, sülfonlar, trimetoprim, izoniazid ve etambutol verilebilir [60].



Şekil.2.1. Antibiyotiklerin hedef bölgeleri [62]

2.4. ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

Antimikrobiyal direnç, antimikrobiyalin bakterinin üremesini ya da öldürülmesini engellemesi yeteneğidir. Bakteriler için gereksiz ve uygunsuz antimikrobiyal kullanımı antimikrobiyallere karşı direnç geliştirilmesine neden olur. Tüm dünyada antimikrobiyallere karşı direnç gelişmesi büyük bir halk sağlığı sorunudur. Çünkü antimikrobiyale dirençli mikroorganizmalar, neden oldukları enfeksiyonların tedavisinde sorunlara neden olmaktadır [90]. İnsanda hastalık yapmaya neden olan virülans genleri taşıyan gıda kaynaklı suşların antimikrobiyal direnç genlerini de taşıması, bunlara sahip olan gıdaları tüketen tüketiciyi de büyük ölçüde tehdit etmektedir. Antimikrobiyal direncine neden olan genler hareketli genetik elemanlarla diğer bakterilere de aktarılmaktadır [91]. Bu durum özellikle gelişmekte olan ülkelerde bakteri izolatlarında antimikrobiyallere direncin dünya çapında yayılmasına neden olmaktadır [92].

Bakteriler antimikrobiyal saldırısına karşı iki ana genetik yol kullanmaktadır. Bu yollar; antimikrobiyalin etki mekanizması ile ilgili gen ya da genlerdeki mutasyonlar ve yatay gen transferi (HGT; horizontal gene transfer) ile dirençli genlerin bulunduğu yabancı DNA alımıdır. Genelde antimikrobiyal direnç nedeni mutasyonlar ve çeşitli mekanizmalar ile antimikrobiyalin etkisini değiştirmektedir. Antimikrobiyal hedefindeki değişimler ilaca ilginin azalması, ilaç alımının azalması, zararlı molekülün dışarı çıkartılması için akış mekanizmasının etkinleştirilmesi, düzenleyici ağlarla önemli metabolik yollarda meydana gelen değişimlerdir [7].

Antimikrobiyallere direnç gelişiminin dört ana tipi bulunmaktadır [90]:

1. Doğal (interestik) direnç
2. Sonradan kazanılan direnç
3. Çapraz direnç
4. Çoklu ilaç direnci

1. Doğal (interestik, yapısal) direnç: Bakterinin sahip olduğu doğal özellikleri bu dirence neden olmaktadır. Bu özellikler bakteride antimikrobiyalin hedefe ulaşmasını engelleyen yapıların varlığı ya da antimikrobiyalin etki edeceği yapıların olmamasıdır. Antimikrobiyal kullanımı bu dirence neden olmaz. Örneğin vankomisin Gram negatif bakterilerin dış membranından geçemez ve bu bakteriler vankomisine doğal olarak dirençlidir [90].

2. Sonradan kazanılan direnç: Bakterinin genetik özelliklerinin değişimi sonucunda oluşan daha önce cevap verdiği antimikrobiyalden etkilenmemesinden dolayı meydana gelen dirençtir. Bu direnç kromozom ya da transpozon, plazmid gibi ekstrakromozomal yapılardan oluşmaktadır [90].

a. Kromozomal direnç: Kromozomal direnç bakteriyel kromozomda kendiliğinden gelişen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bunlara ultraviyole gibi fiziksel ve kimyasal faktörler neden olmaktadır. Bunun sonucunda bakterinin antimikrobiyale geçirgenliği azalabilmekte ya da antimikrobiyalin hedefinde değişimler olabilmektedir [90].

b. Ekstrakromozomal direnç: Plazmid, integron ve transpozon gibi aktarılabilen genetik faktörler ekstrakromozomal dirence neden olmaktadır [90].

3. Çapraz direnç: Bazı mikroorganizmalar dirençli olduğu antimikrobiyalle benzer ya da aynı mekanizma ile etki eden antimikrobiyale de direnç göstermektedir. Bu direnç yapıları benzer antimikrobiyallerde meydana gelmektedir. Fakat bazen tamamen alakasız gruplar arasında da görülebilmektedir [90].

4. Çoklu ilaç direnci: Çoklu ilaç dirençli bakteriler onlara karşı kullanılan antimikrobiyallere direnç göstermektedirler. Bakterilerde çoklu ilaç direnci iki mekanizmayla meydana gelmektedir. Bu mekanizmaların birincisinde bakteriler, herbiri tek bir ilaca direnç gösteren birçok geni bulundurlar. Bu direnç mekanizması direnç (R) plazmidlerinde meydana gelmektedir. Genlerin ifadesinin artmasıyla çoklu ilaç akış pompası, enzimlerin inaktivasyonu, hedef yapıların

değişimi gibi diğer direnç mekanizmalarıdır. Bakteri suşları üç ya da daha fazla antimikrobiyal sınıfına direnç gösteriyorsa çoklu ilaç direnci olduğu kabul edilmektedir [90].

Bu çalışmada *E. coli*'de bulunan bazı önemli antimikrobiyal direnç genleri olan *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *ereA*, *gyrA* ve *dhfrV* genleri araştırılmıştır.

I- β -Laktam Direnci

β -laktam direncine neden olan mekanizmalar; β -laktamazlar, penisilin bağlanma proteinlerinde oluşan (PBP) değişimler ve dış membran proteinlerindeki değişimlerdir [90].

β -laktamazlar, β -laktam halkasını hidrolize ederek etki gösterirler [93]. Penisilin tıbbi uygulamada kullanılmadan önce ilk β -laktamaz ilk kez *E. coli*'de tanımlanmıştır. Gram negatif bakterilerin çoğunda doğal olarak meydana gelen kromozom aracılı β -laktamazlar bulunmaktadır [94]. Bakteriler tarafından üretilen β -laktamazlar β -laktam antimikrobisidler için en yaygın direnç mekanizmalarından biridir [68].

β -laktamazların A, B, C ve D olmak üzere dört molekül sınıfı bulunmaktadır. Sınıf A, C, D serin aktif bölge enzimleridir. Sınıf B ise çinko bağımlı enzimlerden oluşmaktadır [68]. Sınıf A β -laktamazlar sefalosporinlere, penisilinlere ve karbapenemlere etki ederler. Sefotaksime, seftazidime, aztreonama etkileri kısıtlıdır. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde genellikle transpozonlarda ya da plazmidlerde bulunurlar. Gram negatif bakterilerin TEM, SHV enzimleri bu grupta yer alırlar. Bu enzimleri kodlayan genlerde oluşan nokta mutasyonları sonucu geniş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL; extended spectrum beta-lactamases) ortaya çıkmıştır. Bunlar genellikle *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'de bulunur [95]. Günümüzde 350'ye yakın bilinen β -laktamazın 150 kadarı GSBL'dir. GSBL tipi enzimlere örnek olarak TEM, SHV, CTX-M, OXA verilebilir. TEM tipi GSBL enzimlerinin mutasyonlar sonucunda birçok çeşidi meydana gelir. Bunlardan biri

olan TEM-1 Gram negatif bakterilerde en sık rastlanan enzimdir. Bu enzim sefaloridin, sefalotin gibi sefalosporinlere ve penisilinlere karşı dirence neden olur. *E. coli*'de oluşan ampisilin direncinden %90 oranında TEM-1 sorumludur. TEM-10, TEM-26 gibi bazı enzimler ise aztreonamı ve seftazidimi yüksek oranda hidrolize eder ama sefotaksime etkileri daha azdır. CTX-M tipi GSBL enzimleri ise sefotaksimi 150 kat daha fazla hidrolize ederler. CTX-M tipi GSBL enzimlerinin de mutasyonlar sonucunda birçok çeşidi meydana gelir. Bu tip enzimler en sık *Salmonella typhimurium*'da ve *E. coli*'de saptanır [96].

II- Kinolon Direnci

Bakterilerde genellikle kinolon direnci kromozomal mutasyonlar ile meydana gelmektedir [73]. DNA girazı kodlayan *gyrA* ve *gyrB* genleriyle topoizomerez IV'ü kodlayan *parC* ve *parE* genlerinde meydana gelen mutasyonlar kromozomal aracılı kinolon direncine neden olmaktadır [97]. *gyrA* geninde meydana gelen mutasyonlar kinolon dirençli *E. coli*'nin klinik izolatlarında daha yaygın bulunmaktadır [71]. Mutasyonların çoğu kinolon direnci belirleyici bölgesi (QRDR; Quinolone Resistance Determining Region) olarak adlandırılan *gyrA* ve *gyrB* birimlerinde oluşur [97].

III- Makrolid Direnci

ereA geninin kodladığı eritromisin esteraz tip I, *ereB* geninin kodladığı esteraz tip II ve *mph(C)* geninin kodladığı 2' fosfotransferaz enzimleri makrolidin lakton halkasını hidrolize ederek eritromisin ve diğer 14 üyeli makrolidlerin çalışmasını engeller [95, 98, 99, 100].

Eritromisine dirençli suşlar makrolidler dışında kimyasal olarak alakasız linkozamid ve streptogramin B ilaçlarına karşı da direnç göstermektedir [76]. Bu çapraz direnç *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* gibi bakterilerde meydana gelmiştir [95].

IV– Sülfonamid ve Trimetoprimin Direnci

Genellikle sülfonamid direnci *sul2* geninin kodladığı dihidropteroat sentaz enziminin sentezlenmesiyle meydana gelir. İlk kez *E. coli*'de tanımlanan ve plazmidde bulunan *sul2* geninin kodladığı bu enzim sülfonamidlere düşük bağlanma isteği gösterir [80, 95]. Ayrıca klinik olarak önemsiz kromozomal dirençte ise mutasyonlardan dolayı para-aminobenzoik asit aşırı sentezlenir ve sülfonamidlerin çalışması engellenir [95]. Trimetoprimin bakteriyel direnç mekanizmaları; hücre duvarından geçişin azalmasını, alternatif metabolik yolları, dirençli kromozomal dihidrofolat redüktaz enziminin üretimini ve plazmid aracılı trimetoprimin dirençli dihidrofolat redüktaz (DHFR) enziminin üretimini içermektedir [82]. Genellikle trimetoprimin direnci plazmid ya da transpozonlarda bulunan genler tarafından meydana gelir. Bu genler yeni ve trimetoprimine dirençli DHFR enzimlerini sentezler [95]. Bu enzimlerden biri olan DHFR Ib enziminin Tn4132 transpozonu sadece trimetoprimin direncine neden olur. DHFR V ise TMP dirençli suşlar arasında daha baskın bulunur [82]. Kromozomal dirençte ise kromozomal *dhfr* genindeki yapısal mutasyonlar trimetoprimin direncine neden olur. Bu mutasyonlar DHFR'nin aşırı üretimine ve trimetoprimin hücre duvarından geçişinin azalmasına neden olur [82, 95].

2.5. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), bilinen iki DNA dizisi arasındaki gen parçalarının *in vitro* enzimatik çoğaltıldığı yöntemdir [101]. Bu yöntem 1983 yılında Kary Mullis tarafından geliştirilmiştir [102] ve bu nedenle 1993 yılında Nobel Kimya ödülünü almıştır. PCR ile DNA miktarı 3 saatten az bir zamanda milyon kattan fazla artırılabilir. PCR ile çok az miktardaki DNA dizisinin çoğaltılabilmesi hassas bir yöntem olduğunu göstermektedir [103]. Hemen hemen her moleküler laboratuvarında kullanılan bir yöntem olan PCR ile moleküler biyoteknolojide önemli başarılar elde edilmiştir [104].

PCR; kalıp DNA, primerler, deoksiribonükleotit trifosfatlar (dNTP'ler), MgCl₂, tampon, Taq DNA polimeraz enzimi içeren ince duvarlı eppendorf ya da kapillar tüplerde meydana gelmektedir. PCR'ın bir döngüsündeki önemli basamakları denatürasyon, bağlanma ve uzamadır [101]. Ayrıca birinci döngüden önce Taq DNA polimerazın aktif hale gelebilmesi için 94-95 °C'de, 5-10 dakika ön denatürasyon yapılmaktadır [105].

Denatürasyon: Denatürasyon DNA'nın tek zincirli olmasını sağlamaktadır. İki DNA zincirini bağlayan H bağları ayrılmaktadır [102]. DNA 90-97 °C'de denatüre edilmektedir [106]. Denatürasyon sonucunda primerlerin bağlanacağı hedef alanlar açılmaktadır. Bu basamak DNA zincirleri tamamen ayrılana kadar genellikle 1 dakika kadar sürer. Denatürasyon süresi uzun olması Taq DNA polimerazın aktivitesini düşürmektedir [101, 102, 104]. Denatürasyonun tam olarak gerçekleşmemesi PCR'ın verimini düşmesine neden olmaktadır [107].

Bağlanma: Birbirlerinden ayrılan DNA zincirlerine 5'→3' ve 3'→5' yönündeki iki primer kendi tamamlayıcı alanlarına spesifik bağlanmaktadır [101]. Bu basamak 50-65 °C'de 1-2 dakika sürmektedir [101, 102]. PCR'ın başarısı için primerin bağlanma sıcaklığı önemlidir. Her primer için karakteristik olan bağlanma sıcaklığı tamponun iyonik gücüne, primerin baz kompozisyonuna ve uzunluğuna bağlıdır. Bağlanma sıcaklığı yüksek seçilirse primerlerin DNA kalıbına bağlanmamasına, düşük seçilirse primerlerin yanlış yerlere bağlanmasına ya da primer dimeri oluşmasına neden olabilmektedir [101].

Uzama: Taq DNA polimeraz 5'→3' yönünde, primerlerin 3' uçlarından başlayarak deoksinükleotitlerle hedef DNA diziliminin kopyasını yapmaktadır. Bu basamak genellikle 72 °C'de ya da Taq DNA polimerazın optimum sıcaklığında, genellikle 1 dakika sürmektedir [101, 105]. Uzama süresi hedef dizinin uzunluğuna, konsantrasyonuna ve uzama sıcaklığına göre değişebilmektedir [105].

PCR'ın bu üç basamağının tekrar etmesi sonucunda DNA miktarı iki katına çıkar. Etkili bir DNA çoğaltımı için döngü sayısı 25-40 olmalıdır. Döngü sayısının artması

farklı yapıların oluşma olasılığını artırmaktadır. PCR ürünü DNA'lar agaroz jel elektroforezinde yürütülerek ultraviyole ışık altında görüntülenebilmektedir [101].

PCR'nin çeşitli alanlarda uygulamaları bulunmaktadır. PCR ile kistik fibrozis, orak hücre anemisi, fragile X sendromu gibi kalıtsal hastalıkların teşhisinde genlerdeki mutasyonlar tespit edilir [103, 107]. Taşıyıcılara da erken teşhis konulur. Kanser araştırmalarında onkogenlerdeki mutasyonlar aydınlatılır. Adli tıpta, PCR ile DNA'daki tekrar dizileri çoğaltılmasıyla suçlulara ait ya da babalık testi için gerekli olan DNA analizi yapılır. Biyoteknolojide insülin gibi rekombinant proteinlerin ve rekombinant aşuların üretilmesinde kullanılır [108]. Mikrobiyolojide yavaş üreyen, teşhisi uzun süren ve doğal ortamlarının dışında üretilmesi zor olan mikroorganizmaların tespit edilmesinde kullanılır. PCR, yakın türler arasında ya da alt tipler arasında ayırım yapılabilmesini sağlar. Gen klonlamada, genetiği değiştirilmiş DNA'nın saptanmasında, bakteri kontaminasyonunda ve gıdaların özgünlüğünün belirlenmesinde de kullanılır [105].

Patojenik *E. coli*'nin tespitinde fenotipik farklılaşmasından yararlanılması karmaşık ve zaman alıcı işlemler gerektirmektedir [11]. Bazı virülans genlerin ifadesi çeşitli çevresel koşullardan etkilenebileceğinden bunların fenotipik olarak belirlenmesi zor ya da yanıltıcı olabilmektedir [109]. Bu durum geleneksel fenotipik testlerin güvenilir ve hassas olmadığını göstermektedir [110]. *E. coli*'nin virülans faktörlerinin tespitinde kullanılan hibridizasyon tekniklerinde ise radyoaktif izotoplar kullanılır [11, 111]. Bu nedenlerden dolayı virülans genlerinin tespitinde daha doğru, hızlı ve spesifik sonuçlar veren PCR tercih edilmektedir [109, 111].

Antimikrobiyal duyarlılık için kullanılan ve birçok aşaması olan disk difüzyon testinde yanlış disk kullanımı, disk sayısının fazla olması, agar derinliğinin yetersizliği, yanlış inokülasyonun yapılması sonuçların hatalı olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle daha kolay ve doğru sonuçlar veren PCR yöntemiyle antimikrobiyal direnç genleri tespit edilmektedir [112]. Ayrıca gıda güvenliğinde antimikrobiyal direnç genleri ile virülans genler arasındaki ilişkiyi anlamak için de PCR yöntemi kullanılmaktadır [91].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. İzolasyon Örnekleri

Bu araştırmada Bolu ilinde satışa sunulan ve çeşitli marketlerden toplanan kıyma, tavuk, et ve peynir örneklerinden elde edilen 283 *E. coli* izolatı kullanılmıştır. Bu gıdalardan izole edilen izolatların 37'si kıyma, 135'i tavuk, 29'u et ve 82'si peynir örneklerinden izole edilmiştir. Örneklerden *E. coli* izolatlarının eldesi Bolu İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. İzole edilen *E. coli* izolatları gliserollü stok besiyerinde -20 °C'de muhafaza edilmiştir ve DNA izolasyonları Kırıkkale Üniversitesi, Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır ve -20 °C'de saklanmıştır. Bu çalışmada da DNA izolasyonları daha önceden yapılan ve -20 °C'de muhafaza edilen bu stok DNA örnekleri kullanılmıştır.

3.1.2. Referans Mikroorganizma

Referans mikroorganizma olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

3.1.3. Tampon ve Çözeltiler

Bu çalışmada, TAE tamponu, bromofenol mavisi (Carlo ERBA), etidyum bromür, agaroz (Sigma) kimyasal maddeleri kullanılmıştır.

Taq polimeraz tamponu, nükleotit karışımı (dNTP mix) ve Taq polimeraz Thermo Fisher Scientific Dream marka kullanılmıştır.

3.1.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

- Taq polimeraz tamponu 10x: 100 mM Tris-HCl (pH 8,3), 500 mM KCl, 1 mg/mL jelatin.

- MgCl₂: 20 mM
- Nükleotit Karışımı: 10 mM dNTP (dATP, dGTP, dTTP, dCTP)
- Taq polimeraz: 5 u/ µL
- Primerler: Kullanılan primerler Çizelge 3.1. ve Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. *Escherichia coli* virülans genleri ve PCR amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri

Protein	Virülans Gen	Primer dizisi (5' → 3' yönü)	Amplikon boyutu (bp)	Referans
Tip 1 fimbriya	<i>fimH</i>	F: TGCAGAACGGATAAGCCGTGG R: GCAGTCACCTGCCCTCCGGTA	508	[18]
Yersinia-baktin reseptörü	<i>fyuA</i>	F: TGATTAACCCCGCGACGGGAA R: CGCAGTAGGCACGATGTTGTA	880	[19]
P Fimbriya	<i>papG II</i>	F: GGGATGAGCGGGCCTTTGAT R: CGGGCCCCCAAGTAACTCG	190	[19]
Lipoprotein	<i>traT</i>	F: GGTGTGGTGCGATGAGCACAG R: CACGGTTCAGCCATCCCTGAG	290	[19]
Kapsüler polisakkarit	<i>kpsMT II</i>	F: GCGCATTTGCTGATACTGTTG R: CATCCAGACGATAAGCATGAGC A	272	[18]

Çizelge 3.2. *Escherichia coli* antimikrobiyal direnç genleri ve PCR amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri

Antimikrobiyal ajan	Antimikrobiyal Direnç Geni	Primer dizisi (5'→ 3' yönü)	Amplikon boyutu (bp)	Referans
Nalidiksik asit	<i>gyrA</i>	F: ACGTACTAGGCAATGACTGG R: AGAAGTCGCCGTCGATAGAAC	190	[113]
Sefotaksim	<i>bla_{CTX-M}</i>	F: TCTTCCAGAATAAGGAATCCC R: CCGTTTCCGCTATTACAAAC	909	[114]
Trimetoprim	<i>dhfrV</i>	F: CTGCAAAAGCGAAAAACGG R: AGCAATAGTTAATGTTTGAGCTAAAG	432	[91]
Eritromisin	<i>ereA</i>	F: GCCGGTGCTCATGAACTTGAG R: CGACTCTATTTCGATCAGAGGC	420	[115]
Ampisilin	<i>bla_{TEM}</i>	F: TCGGGAAATGTGCGCG R: TGCTTAATCAGTGAGGACCC	971	[116]

3.1.3.2. Agaroz Jel Elektrofrezisi İçin Kullanılan Çözeltiler

- Agaroz: %2'lik (w/v) agaroz TAE tamponunda çözülerek hazırlanmıştır.
- Tris asetat (TAE) tamponu (x50) (pH 8): 242 g Tris base, 57,1 mL Glisial asetik asit, 0,5 M 100 mL EDTA (pH 8), saf su.
- Yükleme tamponu: %40 sukroz, %0,025 bromofenol mavisi, %0,25 ksilen siyanol.
- Etidyum bromür: 10 mg/mL derişimde hazırlanmış ve koyu renkli şişelerde muhafaza edilmiştir.

3.1.3.3. Sterilizasyon

Steril kullanılması gereken tüm tampon ve çözeltiler, 121°C'da 20 dakika sterilizasyona tabi tutulmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR uygulamaları için Çizelge 3.1. ve Çizelge 3.2.'de baz dizilimleri verilen primerlerin her biri ile hedef DNA'nın amplifiye olması beklenen bölgeleri çoğaltılmıştır. Tüm PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR karışımları 50 µL toplam hacimde, 50mM 10X Taq tampon çözeltisi, 20 mM MgCl₂, 10 mM dNTP, 0,4 pmol ileri primer (F), 0,4 pmol geri primer (R), 1 U Taq DNA polimeraz (Thermo Fisher Scientific Dream), 20 ng DNA olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. *Escherichia coli* antimikrobiyal direnç ve virülans genleri analizinde kullanılan PCR amplifikasyon programları ise Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. *Escherichia coli* virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin tespitinde kullanılan PCR amplifikasyon programları

Primerler	Ön denatürasyon	Denatürasyon	Pimerlerin Bağlanması	Uzama	Son Uzama	Döngü sayısı
<i>fimH</i>	95 °C, 5 dk	95 °C, 1dk	63 °C, 1 dk	72 °C, 1 dk	72 °C, 5 dk	30
<i>fyuA</i>	95 °C, 5dk	94 °C, 30 saniye	63 °C, 30 saniye	68 °C, 3 dk	72 °C, 10 dk	25
<i>papG II</i>	95 °C, 5dk	94 °C, 30 saniye	63 °C, 30 saniye	68 °C, 3 dk	72 °C, 10 dk	25
<i>traT</i>	95 °C, 5dk	94 °C, 30 saniye	63 °C, 30 saniye	68 °C, 3 dk	72 °C, 10 dk	25
<i>kpsMT II</i>	95 °C, 5 dk	95 °C, 1 dk	60 °C, 1 dk	72 °C, 1 dk	72 °C, 5 dk	30
<i>gyrA</i>	95 °C, 5 dk	95 °C, 30 saniye	55 °C, 30 saniye	68 °C, 1 dk	68 °C, 10 dk	35
<i>bla_{CTX-M}</i>	95 °C, 10 dk	95 °C, 30 saniye	55 °C, 1dk	72 °C, 2 dk	72 °C, 7 dk	30
<i>dhfrV</i>	95 °C, 15 dk	94 °C, 30 saniye	58 °C, 30 saniye	72 °C, 1 dk	72 °C, 10 dk	30
<i>ereA</i>	95 °C, 3 dk	94 °C, 30 saniye	60 °C, 30 saniye	72 °C, 30 sn	72 °C, 10 dk	30
<i>bla_{TEM}</i>	96 °C, 15 saniye	96 °C, 15 saniye	50 °C, 15 saniye	72 °C, 2 dk	72 °C, 2 dk	24

Elde edilen PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi için –20 °C'da saklanmıştır.

3.2.2. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Yürütülmesi

Kullanılan elektroforez (BIORAD) yatay konumda olup jel plaklarının büyüklüğü 70x70 mm'dir. %2 (w/v) agaroz, TAE tamponu içinde kaynatılarak çözüldükten sonra etidyum bromür çözeltisi eklenmiş ve plağa dökülmüştür. Jel polimerleştikten sonra 0,2 mL'lik tüplerde oluşturulan 50 µL'lik PCR ürünlerinden 12'şer µL pipet yardımıyla alınıp, 3 µL 6x yükleme boyası ile karıştırıldı. Oluşturulan karışımın tamamı alınarak, jeldeki uygun pozisyondaki kuyucuğa yüklendi. Hazırlanmış olan jele, istenilen örnekler ve marker (Thermo Scientific GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder) yükleme yapıldıktan sonra, elektroforez tankının kapağı kapatılıp, elektrotlar uygun pozisyonda bağlandıktan sonra 90 V serbest akımda yürütülmüştür. Elektroforez işleminin ardından yürütülen jel, bilgisayara bağlı durumdaki transilluminatör cihazındaki odacığa yerleştirilmiş ve UV ışığı altında fotoğraflandıktan sonra, bant uzunlukları değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada Bolu ilinde bulunan çeşitli yerlerden toplanarak izole edilen 37'si kıyma, 29'u et, 135'i tavuk ve 82'si peynire ait toplam 283 *E.coli* izolatında *fimH*, *fyuA*, *papG II*, *traT*, *kpsMT II* virülans genlerini ve *gyrA*, *ereA*, *bla_{CTX-M}*, *dhfrV*, *bla_{TEM}* antimikrobiyal direnç genlerini saptamak için Çizelge 3.1. ve Çizelge 3.2.'de verilen spesifik primer dizilerini ve Çizelge 3.3.'te verilen PCR programlarını kullanılarak PCR yapılmıştır. PCR sonucunda *E. coli* izolatlarında tespit edilen virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin toplu sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *E. coli* izolatlarında tespit edilen virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin sonuçları

İzolat No	Virülans Genler					Antimikrobiyal Direnç Genleri				
	<i>fimH</i>	<i>fyuA</i>	<i>papG II</i>	<i>traT</i>	<i>kpsmT II</i>	<i>gyrA</i>	<i>ereA</i>	<i>bla_{CTXM}</i>	<i>dhfrV</i>	<i>bla_{TEM}</i>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
K1	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
K2	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
K3	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
K4	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K5	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K6	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K7	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K8	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
K9	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K10	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
K11	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K12	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K13	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K14	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K15	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K16	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
K17	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
K18	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K19	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K20	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K21	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+

Çizelge 4.1. (devam)

İzolot No	Virülans Genler					Antimikrobiyal Direnç Genleri				
	<i>fimH</i>	<i>fyuA</i>	<i>papG II</i>	<i>traT</i>	<i>kpsmT II</i>	<i>gyrA</i>	<i>ereA</i>	<i>bla_{CTXM}</i>	<i>dhfrV</i>	<i>bla_{TEM}</i>
K22	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
K23	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
K24	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K25	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K26	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K27	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K28	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K29	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K30	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K31	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K32	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K33	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
K34	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
K35	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
K36	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
K37	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T38	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T39	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T40	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T41	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
T42	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+
T43	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+
T44	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T45	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
T46	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
T47	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
T48	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
T49	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
T50	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
T51	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
T52	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+
T53	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
T54	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T55	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T56	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
T57	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T58	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+
T59	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T60	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T61	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T62	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
T63	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T64	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-

Çizelge 4.1. (devam)

İzolot No	Virülans Genler					Antimikrobiyal Direnç Genleri				
	<i>fimH</i>	<i>fyuA</i>	<i>papG II</i>	<i>traT</i>	<i>kpsmT II</i>	<i>gyrA</i>	<i>ereA</i>	<i>bla_{CTXM}</i>	<i>dhfrV</i>	<i>bla_{TEM}</i>
T65	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
T66	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T67	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
T68	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
T69	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+
T70	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+
T71	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
T72	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
T73	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T74	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T75	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T76	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T77	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
T78	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
T79	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T80	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T81	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T82	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+
T83	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T84	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T85	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T86	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T87	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+
T88	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
T89	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
T90	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
T91	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-
T92	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T93	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
T94	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T95	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T96	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T97	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+
T98	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T99	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T100	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
T101	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T102	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+
T103	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+
T104	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
T105	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
T106	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
T107	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+

Çizelge 4.1. (devam)

İzolat No	Virülans Genler					Antimikrobiyal Direnç Genleri				
	<i>fimH</i>	<i>fyuA</i>	<i>papG II</i>	<i>traT</i>	<i>kpsmT II</i>	<i>gyrA</i>	<i>ereA</i>	<i>bla_{CTXM}</i>	<i>dhfrV</i>	<i>bla_{TEM}</i>
T108	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T109	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T110	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
T111	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
T112	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
T113	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T114	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
T115	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
T116	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
T117	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
T118	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+
T119	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
T120	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T121	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T122	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T123	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T124	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T125	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
T126	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T127	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T128	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T129	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T130	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T131	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
T132	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-
T133	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
T134	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T135	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T136	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T137	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T138	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T139	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T140	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T141	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T142	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
T143	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
T144	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
T145	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
T146	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
T147	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
T148	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
T149	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
T150	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+

Çizelge 4.1. (devam)

İzolat No	Virülans Genler					Antimikrobiyal Direnç Genleri				
	<i>fimH</i>	<i>fyuA</i>	<i>papG II</i>	<i>traT</i>	<i>kpsmT II</i>	<i>gyrA</i>	<i>ereA</i>	<i>bla_{CTXM}</i>	<i>dhfrV</i>	<i>bla_{TEM}</i>
T151	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
T152	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
T153	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
T154	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T155	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T156	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
T157	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
T158	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
T159	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
T160	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T161	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T162	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T163	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T164	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T165	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
T166	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+
T167	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
T168	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+
T169	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T170	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T171	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
T172	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E173	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E174	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E175	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E176	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-
E177	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-
E178	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-
E179	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E180	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E181	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
E182	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
E183	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
E184	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
E185	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
E186	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
E187	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
E188	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
E189	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
E190	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
E191	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E192	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
E193	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+

Çizelge 4.1. (devam)

İzolat No	Virülans Genler					Antimikrobiyal Direnç Genleri				
	<i>fimH</i>	<i>fyuA</i>	<i>papG II</i>	<i>traT</i>	<i>kpsmT II</i>	<i>gyrA</i>	<i>ereA</i>	<i>bla_{CTXM}</i>	<i>dhfrV</i>	<i>bla_{TEM}</i>
E194	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
E195	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
E196	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E197	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
E198	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
E199	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
E200	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+
E201	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+
P202	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P203	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
P204	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P205	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P206	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P207	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P208	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P209	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P210	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P211	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P212	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P213	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P214	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P215	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
P216	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
P217	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P218	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P219	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P220	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+
P221	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P222	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P223	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P224	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P225	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P226	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+
P227	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P228	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P229	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P230	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P231	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
P232	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P233	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
P234	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
P235	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
P236	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Çizelge 4.1. (devam)

İzolat No	Virülans Genler					Antimikrobiyal Direnç Genleri				
	<i>fimH</i>	<i>fyuA</i>	<i>papG II</i>	<i>traT</i>	<i>kpsmT II</i>	<i>gyrA</i>	<i>ereA</i>	<i>bla_{CTXM}</i>	<i>dhfrV</i>	<i>bla_{TEM}</i>
P237	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P238	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
P239	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
P240	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
P241	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
P242	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P243	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
P244	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
P245	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
P246	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
P247	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P248	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P249	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P250	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P251	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P252	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P253	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P254	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P255	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P256	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P257	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P258	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P259	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P260	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
P261	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+
P262	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+
P263	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P264	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P265	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P266	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P267	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P268	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P269	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P270	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P271	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P272	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P273	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P274	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P275	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
P276	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P277	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P278	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
P279	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-

Çizelge 4.1. (devam)

İzolat No	Virülans Genler					Antimikrobiyal Direnç Genleri				
	<i>fimH</i>	<i>fyuA</i>	<i>papG II</i>	<i>traT</i>	<i>kpsmT II</i>	<i>gyrA</i>	<i>ereA</i>	<i>bla_{CTXM}</i>	<i>dhfrV</i>	<i>bla_{TEM}</i>
P280	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P281	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
P282	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
P283	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+

*Çizelgede 1- 37 numaralı örnekler Kıyma, 38-172 numaralı örnekler Tavuk, 173-201 Et, 202-283 numaralı örnekler Peynir olarak numaralandırılmıştır. *E. coli* izolatlarındaki tespit edilen virülans genler ve antimikrobiyal direnç genleri “+” olarak işaretlenmiştir.

Elde edilen bu Çizelge’ye göre; çalışmamızdaki izolatlardan 3’ü (T41, T48, T100) tüm virülans genleri, 5’i (K8, T89, T90, T102, T103) 4 virülans geni, 43’ü (K9, K10, K17, K23, K27, T53, T55, T62, T75, T77, T79, T81, T87, T91, T97, T106, T114, T115, T116, T118, T131, T132, T133, T139, T142, T144, T146, T147, T156, T157, T158, T166, T167, T168, E199, P215, P226, P235, P238, P240, P241, P261, P283) 3 virülans geni taşıdığı ve 39’nun (K20, K25, T126, T136, T152, T155, T165, E185, E186, E187, E192, E193, P204, P205, P207, P208, P209, P210, P211, P212, P213, P214, P217, P218, P219, P225, P232, P236, P237, P248, P249, P257, P269, P270, P272, P277, P278, P281, P282) ise virülans genlerden hiçbirini taşımadığı tespit edilmiştir. Diğer izolatlar ise bir ya da iki virülans gen taşımaktadır. Bu sonuçlara göre 283 izolatın sadece 39’nun (%14) bu virülans genlerden hiçbirini taşıması, geri kalan 244 izolatta (%86) ise en az bir en çok 5 virülans genin tespit edilmesi ülkemiz için büyük bir endişe kaynağıdır.

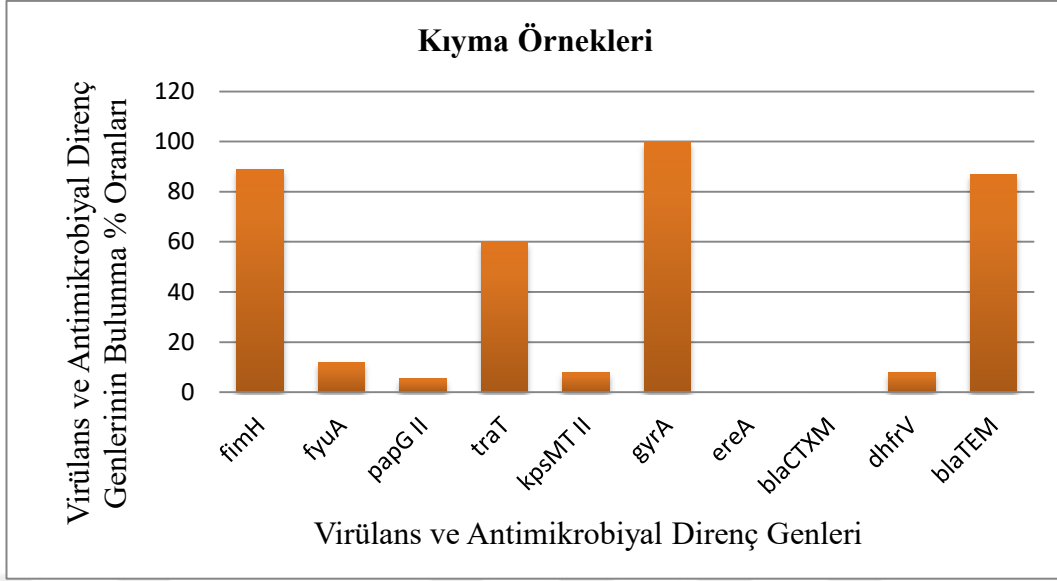
Elde edilen antimikrobiyal direnç genlerinin sonuçlarına göre ise; çalışmamızdaki izolatlardan 2’sinde (T42, T43) 4 (*gyrA*, *dhfrV*, *ereA*, *bla_{TEM}*) antimikrobiyal direnç geni tespit edilmiştir. Diğer izolatların ise en az bir antimikrobiyal direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir. *gyrA* geni tüm izolatlarda, *ereA* geni sadece 2 izolatta (T42, T43) tespit edilmiş ve *bla_{CTX-M}* geni ise hiçbir izolatta tespit edilememiştir. Çalışmamızdaki izolatlardan 47’sinin (K16, K17, K22, K34, K35, T46, T53, T62,

T64, T65, T71, T72, T77, T104, T105, T106, T142, T143, T144, T147, T151, T152, T153, P212, P231, P233, P234, P235, P236, P237, P238, P239, P240, P241, P242, P243, P244, P245, P246, P247, P248, P249, P266, P267, P269, P270, P279) bir antimikrobiyal direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir.

4.1. *E. coli* Kıyma Örneklerinin PCR Sonuçları

İncelenen 283 *E. coli* izolatından 37 kıyma izolatının spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR sonuçlarına göre; 37 kıyma izolatının 33 (%89,2)'ünde 508 bç uzunluğunda *fimH*, 4 (%10,8)'ünde 880 bç uzunluğunda *fyuA*, 2 (%5,4)'sinde 190 bç uzunluğunda *papG II*, 22 (%60)'sinde 290 bç uzunluğunda *traT*, 3 (%8,1)'ünde 272 bp uzunluğunda *kpsMT II* virülans genleri ve 37 (%100)'sinde 190 bç uzunluğunda *gyrA*, 3 (%8,1)'ünde 432 bç uzunluğunda *dhfrV*, 32 (%87)'sinde 972 bç uzunluğunda *bla_{TEM}* antimikrobiyal direnç genlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. *ereA* ve *bla_{CTX-M}* antimikrobiyal direnç genleri ise çalışılan kıyma izolatlarının hiçbirinde tespit edilememiştir.

İzolatlardaki virülans genlerin ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları Şekil 4.1'de verilmiştir.

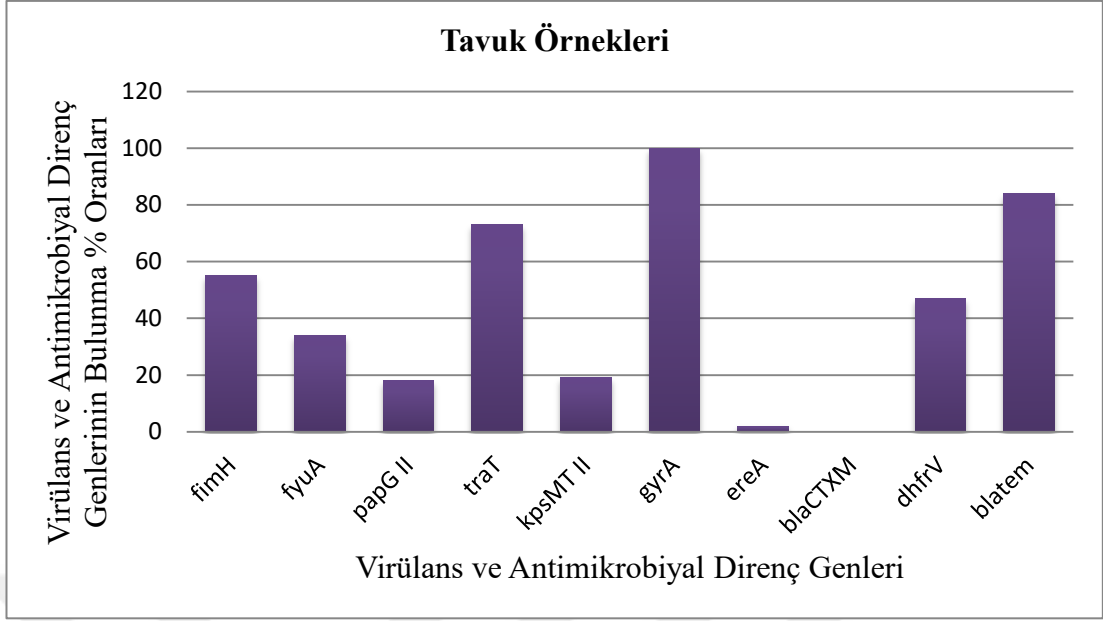


Şekil 4.1. 37 *E. coli* kıyma örneğindeki virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları

4.2. *E. coli* Tavuk Örneklerinin PCR Sonuçları

İncelenen 283 *E. coli* izolatından 135 tavuk izolatının spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR sonuçlarına göre; 135 tavuk izolatının 74 (%55)'ünde 508 bç uzunluğunda *fimH*, 46 (%34,1)'sında 880 bç uzunluğunda *fyuA*, 25 (%19)'inde 190 bç uzunluğunda *papG II*, 99 (%73,3)'ünde 290 bç uzunluğunda *traT*, 25 (%19)'inde 272 bç uzunluğunda *kpsMT II* virülans genleri ve 135 (%100)'ünde 190 bç uzunluğunda *gyrA*, 2 (%1,48)'sinde 420 bç uzunluğunda *ereA*, 63 (%47)'ünde 432 bç uzunluğunda *dhfrV*, 971 bç uzunluğunda 114 (%84,4)'ünde *bla_{TEM}* antimikrobiyal direnç genlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. *bla_{CTX-M}* antimikrobiyal direnç geni ise çalışılan tavuk izolatlarının hiçbirinde tespit edilememiştir.

İzolatlardaki virülans genlerin ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları Şekil 4.2'de verilmiştir.

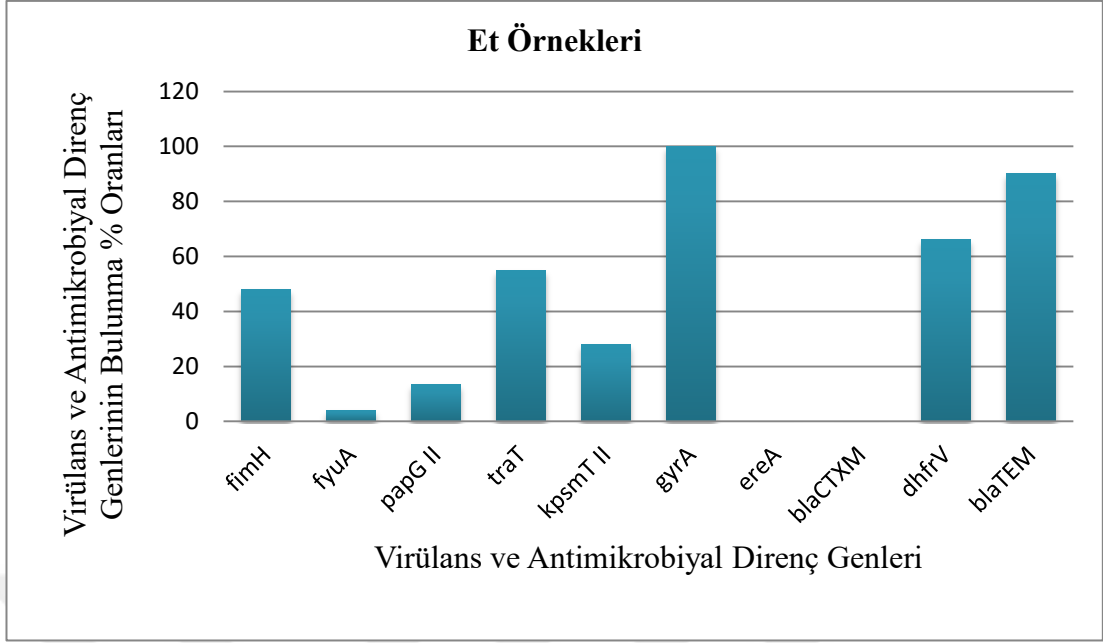


Şekil 4.2. 135 *E. coli* tavuk örneğindeki virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları

4.3. *E. coli* Et Örneklerinin PCR Sonuçları

İncelenen 283 *E. coli* izolatından 29 et izolatının spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR sonuçlarına göre; 29 et izolatının 14 (%48,3)'ünde 508 bç uzunluğunda *fimH*, 1 (%3,45)'inde 880 bç uzunluğunda *fyuA*, 16 (%55,2)'sında 290 bç uzunluğunda *traT*, 8 (%28)'inde 272 bç uzunluğunda *kpsMT II* virülans genleri ve 29 (%100)'unda 190 bç uzunluğunda *gyrA*, 19 (%66)'unda 432 bç uzunluğunda *dhfrV*, 26 (%90)'sında 971 bç uzunluğunda *bla_{TEM}* antimikrobiyal direnç genlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. *papG II* virülans geni, *ereA* ve *bla_{CTX-M}* antimikrobiyal direnç genleri ise çalışılan et izolatlarının hiçbirinde tespit edilememiştir.

İzolatlardaki virülans genlerin ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları Şekil 4.3'te verilmiştir.

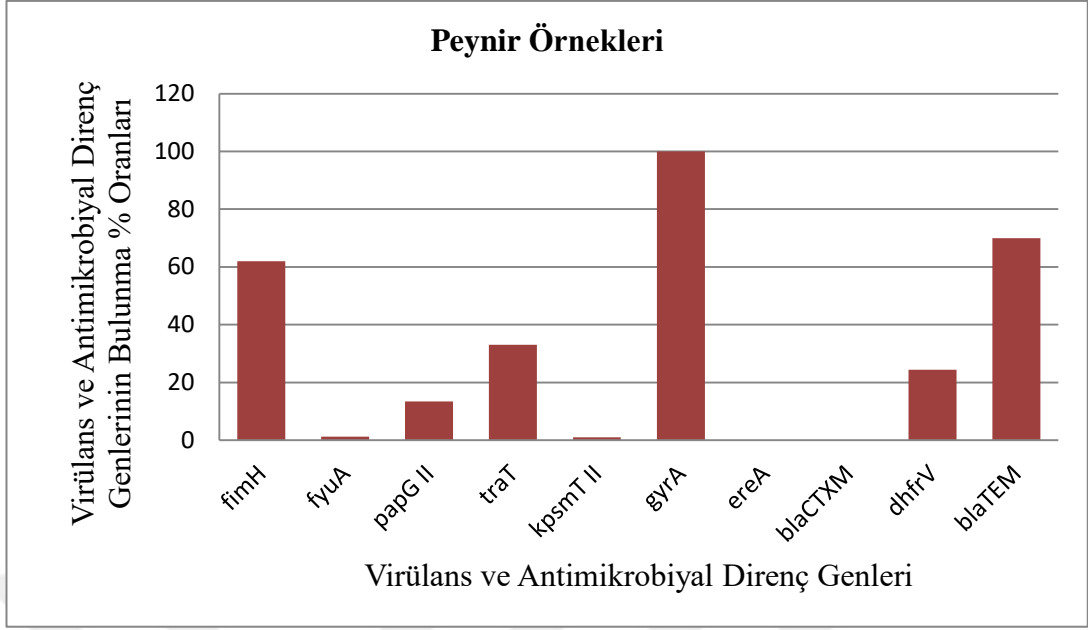


Şekil 4.3. 29 *E. coli* et örneğindeki virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları

4.4. *E. coli* Peynir Örneklerinin PCR Sonuçları

İncelenen 283 *E. coli* izolatından 82 peynir izolatının spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR sonuçlarına göre; 82 peynir izolatının 51 (%62,2)'inde 508 bç uzunluğunda *fimH*, 1 (%1,2)'inde 880 bç uzunluğunda *fyuA*, 11 (%13,4)'inde 190 bç uzunluğunda *papG II*, 27 (%33)'sinde 290 bç uzunluğunda *traT*, 1 (%1,2)'inde 272 bç uzunluğunda *kpsMT II* virülans genleri ve 82 (%100)'sinde 190 bç uzunluğunda *gyrA*, 20 (%24,4)'sinde 432 bç uzunluğunda *dhfrV*, 57 (%70)'sinde 971 bç uzunluğunda *bla_{TEM}* antimikrobiyal direnç genlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. *ereA* ve *bla_{CTX-M}* antimikrobiyal direnç genleri ise çalışılan peynir izolatlarının hiçbirinde tespit edilememiştir.

İzolatlardaki virülans genlerin ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları Şekil 4.4.'te verilmiştir.



Şekil 4.4. 82 *E. coli* peynir örneğindeki virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin % oranları

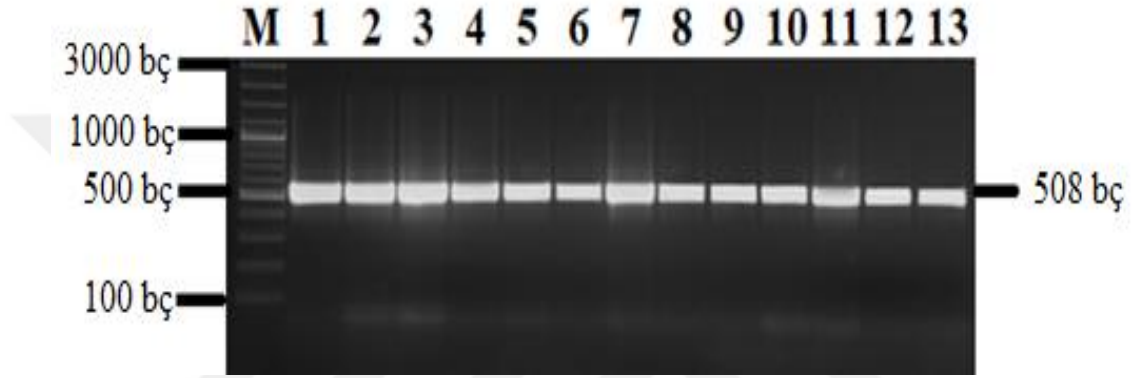
Elde edilen sonuçlara göre çalışılan 283 *E. coli* izolatında tespit etmeye çalıştığımız antimikrobiyal direnç genleri ve virülans genlerinin kıyım, et, tavuk ve peynir örneklerindeki yüzde (%) dağılımları toplu sonuçları da Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. 283 *E. coli* izolatında tespit edilen antimikrobiyal direnç ve virülans genlerinin kıyım, et, tavuk ve peynir örneklerindeki yüzde (%) dağılımı

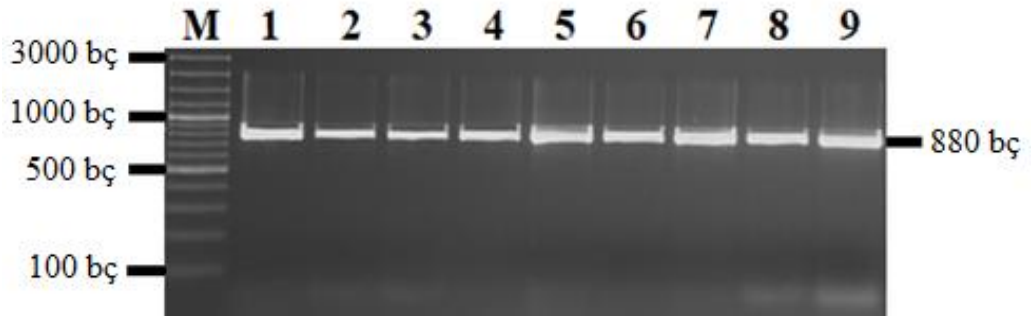
	Kıyım (37)	Et (29)	Tavuk (135)	Peynir (82)	ATCC 25922	Toplam
<i>fimH</i>	33 (%89,2)	14 (%48,3)	74 (%55)	51 (%62,2)	+	172 (%61)
<i>fyuA</i>	4 (%10,8)	1 (%3,45)	46 (%34,1)	1 (%1,2)	+	52 (%18,4)
<i>papG II</i>	2 (%5,4)	-	25 (%19)	11 (%13,4)	+	38 (%13,4)
<i>traT</i>	22 (%60)	16 (%55,2)	99 (%73,3)	27 (%33)	+	164 (%58)
<i>kpsMT II</i>	3 (%8,1)	8 (%28)	25 (%19)	1 (%1,2)	+	37 (%13,1)
<i>gyrA</i>	37 (%100)	29 (%100)	135 (%100)	82 (%100)	+	283 (%100)
<i>ereA</i>	-	-	2 (%1,48)	-	-	2 (%0,71)
<i>dhfrV</i>	3 (%8,1)	19 (%66)	63 (%47)	20 (%24,4)	+	105 (%37,1)
<i>bla_{TEM}</i>	32 (%87)	26 (%90)	114 (%84,4)	57 (%70)	+	229 (%81)
<i>bla_{CTX-M}</i>	-	-	-	-	-	0

4.5. *E. coli* İzolatlarının PCR Amplifikasyonu Sonucu Elde Edilen Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçları

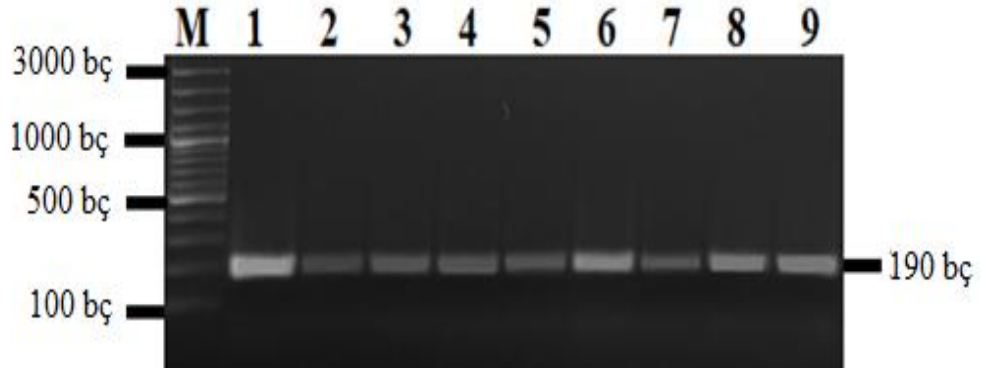
Çalışmamızda kullanılan virülans ve antimikrobiyal direnç genlerinin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi sonuçları Şekil 4.5-Şekil 4.13'de verilmiştir.



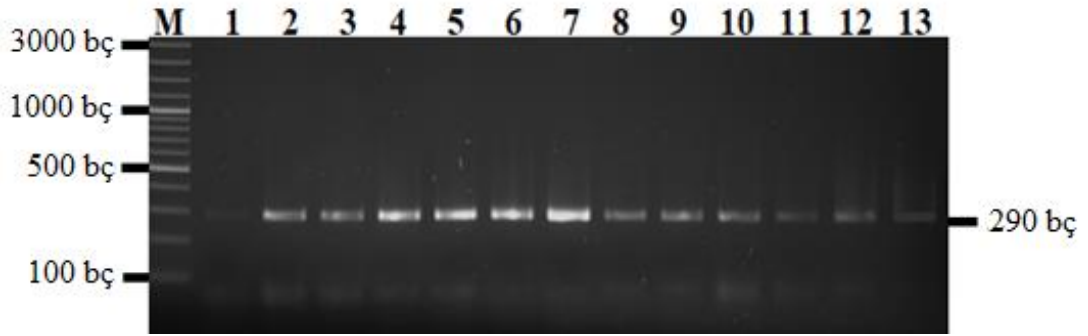
Şekil 4.5. *E. coli* izolatlarındaki *fimH* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1- ATCC 25922, 2-4- kıyma, 5-7- tavuk, 8-10- et, 11-13- peynir



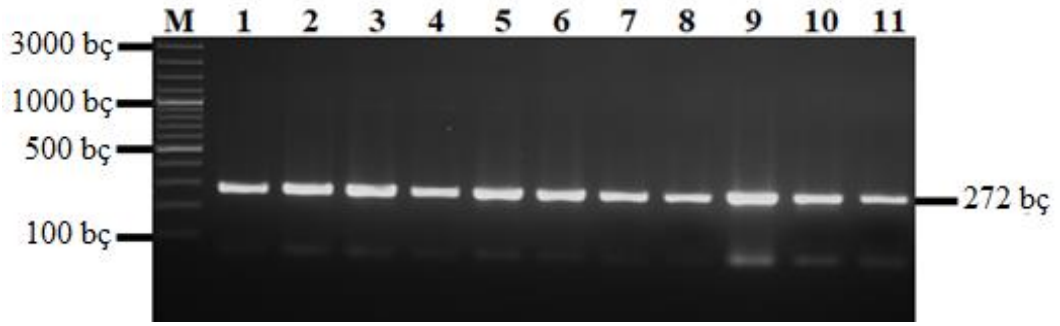
Şekil 4.6. *E. coli* izolatlarındaki *fyuA* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1- ATCC 25922, 2-4- kıyma, 5-7- tavuk, 8-et, 9- peynir



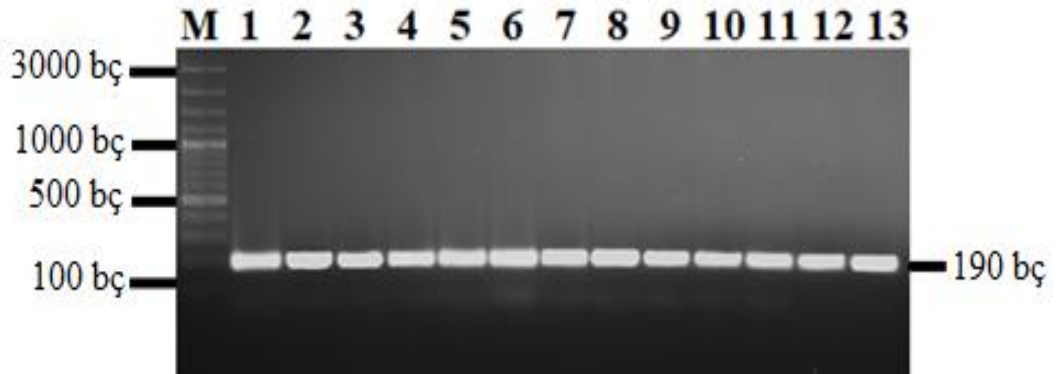
Şekil 4.7. *E. coli* izolatlarındaki *papG II* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1- ATCC 25922, 2-3- kıyma, 4-6- tavuk, 7-9- peynir



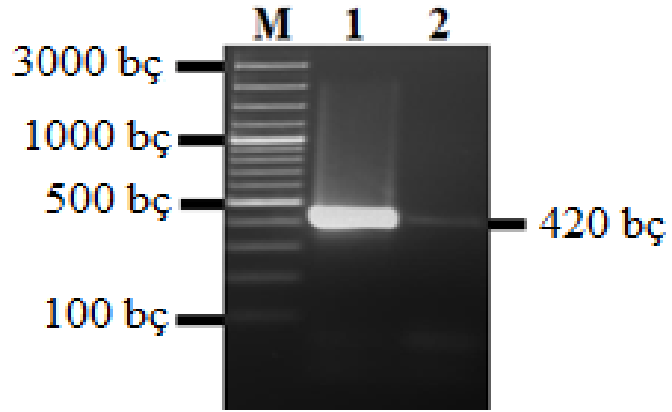
Şekil 4.8. *E. coli* izolatlarındaki *traT* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1- ATCC 25922, 2-4- kıyma, 5-7- tavuk, 8-10- et, 11-13- peynir



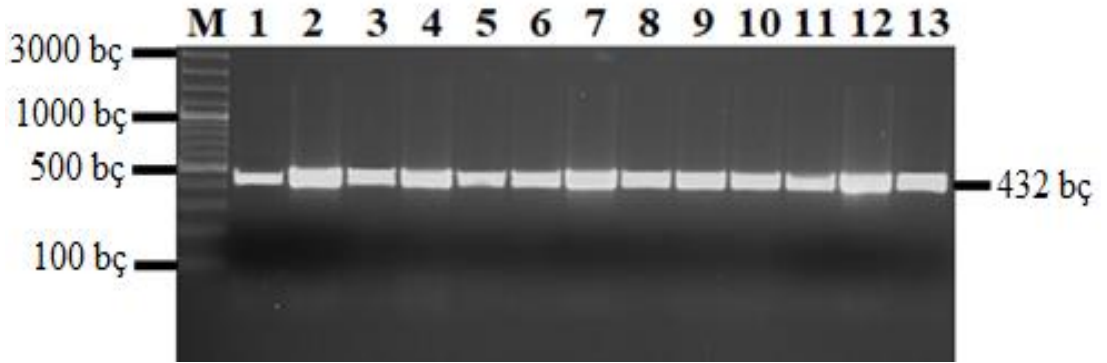
Şekil 4.9. *E. coli* izolatlarındaki *kpsMT II* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1- ATCC 25922, 2-4- kıyma, 5-7- tavuk, 8-10- et, 11- peynir



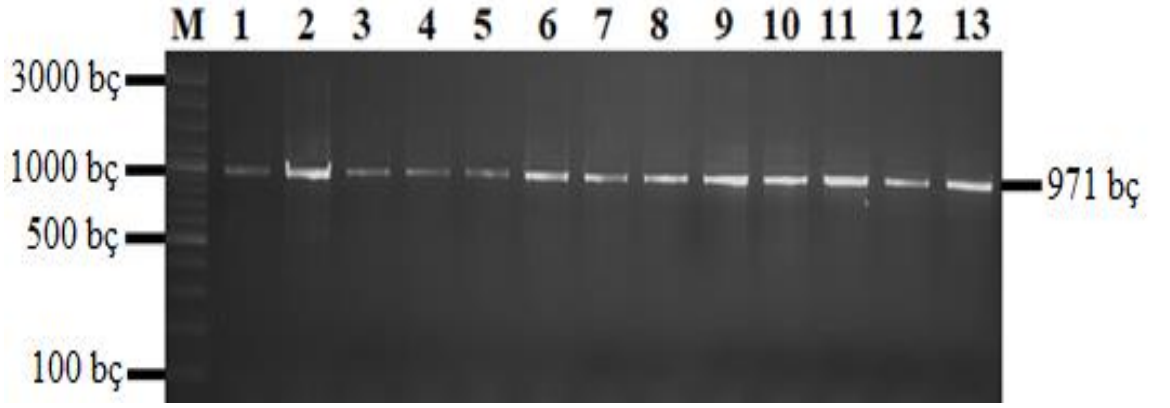
Şekil 4.10. *E. coli* izolatlarındaki *gyrA* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1- ATCC 25922, 2-4- kıyma, 5-7- tavuk, 8-10- et, 11-13- peynir



Şekil 4.11. *E. coli* izolatlarındaki *ereA* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1-2- tavuk



Şekil 4.12. *E. coli* izolatlarındaki *dhfrV* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1- ATCC 25922, 2-4- kıyma, 5-7- tavuk, 8-10- et, 11-13- peynir



Şekil 4.13. *E. coli* izolatlarındaki *bla_{TEM}* geninin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen agaroz jel elektroforezi görüntüsü. M: marker (Thermo Scientific SM0321), 1- ATCC 25922, 2-4- kıyma, 5-7- tavuk, 8-10- et, 11-13- peynir

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Son otuz yılda, gıda kaynaklı hastalıkların görülme sıklığı, çarpıcı bir şekilde artmaktadır ve önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, her yıl 48 milyon Amerikalı'nın (6'da biri) hastalandığını, 128.000'in hastanede kaldığını ve 3.000'in gıda kaynaklı hastalıklardan öldüğünü tahmin etmektedir [117]. Avrupa'da 2013 yılında, 43.183 vaka, 5.946 hastanede yatma ve 11 ölümlü, 5.196 gıda kaynaklı hastalık vakası bildirilmiştir [118].

Gıda kaynaklı hastalıklara genellikle, patojenik bakteriler, bakteriyel toksinler, virüsler veya vücudu gastrointestinal sistem yoluyla istila eden parazitler ile bulaşan yiyecek ve içme suyu tüketimi neden olmaktadır. Herkes risk altındadır, ancak bebekler, yaşlılar ve bağışıklık sistemi zayıflamış insanlar daha ciddi sonuçlarla karşı karşıyadır [118].

Ülkemizde ise Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 1993-2005 yılları arasında gıda kaynaklı hastalıklardan dolayı 108.246 kişi hastanede yatmış ve 1.702 kişi ölmüştür. Bu sonuçların çok daha yüksek olduğu düşünülmektedir. Çünkü bu hastalıkların değerlendirilmesinde ve ilgili verilerin düzenli olarak toplanmasında hata oranları oldukça yüksektir [119].

Yiyecekleri kirletebilecek bakterilerin bazıları hayvansal kaynaklıdır. Et, süt ve ürünleri, hijyenik olmayan koşullarda üretilmesi ve saklanması sırasında kontamine olabilirler ve gıda kaynaklı hastalıkların önemli kaynakları olabilecek çeşitli mikroorganizmaları (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Listeria* spp. vb.) içerebilirler [120]. Tedavisi olmayan birçok hastalığa, salgına ve büyük ekonomik kayıplara neden olan bu patojenlerin başlıcalarından biri de *E. coli*'dir [121]. Aslında zararsız olan *E. coli* çeşitli virülans genlerine sahip olması sonucu insanlarda ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara yol açar [122]. Gıda maddelerinde bulunan bu patojenlerin ve taşıdıkları virülans genlerin hızlı bir şekilde tespit edilmesi ve gıda

güvenliği için hastalıkların önlemesi için hassas, hızlı ve uygun maliyetli teknolojilere ihtiyaç vardır. Bu amaçla geleneksel, zahmetli ve zaman alıcı kültür yaklaşımlarının yanı sıra, daha yüksek hassasiyet ve özgüllüğe sahip moleküler yöntemler geliştirilmiştir [123]. Son yıllarda, PCR metodu gıda kaynaklı patojenlerin hızlı bir şekilde saptanması, doğruluğu ve kesinliği nedeniyle iyi bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır ve hızlı ve etkili bir gen tespit analiz yöntemi olarak araştırma ve klinik laboratuvarlarında en yaygın uygulanan yöntem olmaya devam etmektedir [124].

Yapılan bu tez çalışması kapsamında *E. coli* mikroorganizmasında yer alan bazı önemli virülans genlerden, mesane hücrelerine adezyonu sağlayan *fimH*, biyofilm oluşumunda rol oynayan *fyuA*, idrar yolu enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli rol oynayan ve P fimbriyaları kodlayan, ayrıca *E. coli*'nin normal konakçı savunma sisteminin bazı bileşenlerinin üstesinden gelmek için gerekli olan *papG II*, yüzey dışlama mekanizmasında ve serum direncinde rol oynayan *traT*, yine bakterileri konakçı immün sisteminden korumada rol alan ve polisakkarit sentezinden sorumlu olan *kpsMT II* virülans genlerinin varlığı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi ile tespit edilmeye çalışılmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre Bolu ilinde bulunan çeşitli yerlerden toplanarak izole edilen 37 kıyım, 29 et, 135 tavuk ve 82 peynire ait toplam 283 *E. coli* suşunda;

fimH geni; kıyım izolatlarının 33 (%89,2)'ünde, tavuk izolatlarının 74 (%55)'ünde, et izolatlarının 14 (%48,3)'ünde, peynir izolatlarının 51 (%62,2)'inde,

fyuA geni; kıyım izolatlarının 4 (%10,8)'ünde, tavuk izolatlarının 46 (%34,1)'sında, et izolatlarının 1 (%3,45)'inde, peynir izolatlarının 1 (%1,2)'inde,

papG II geni; kıyım izolatlarının 2 (%5,4)'sinde, tavuk izolatlarının 25 (%19)'inde, peynir izolatlarının 11 (%13,4)'inde,

traT geni; kıyma izolatlarının 22 (%60)'sinde, tavuk izolatlarının 99 (%73,3)'unda, et izolatlarının 16 (%55,2)'sında, peynir izolatlarının 27 (%33)'sinde,

kpsMT II geni; kıyma izolatlarının 3 (%8,1)'ünde, tavuk izolatlarının 25 (%19)'inde, et izolatlarının 8 (%28)'inde ve peynir izolatlarının ise 1 (%1,2)'inde tespit edilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlara göre; *fimH* geni virülans genler arasında kıyma ve peynir izolatlarında en fazla tespit edilen gen olmuştur. *papG II* geni virülans genler arasında kıyma ve tavuk izolatlarında en az tespit edilen gen olup, et izolatlarında ise hiç tespit edilememiştir. *fyuA* geni peynir izolatlarında en az bulunan virülans genlerden biri olmuştur. *traT* geni tavuk ve et izolatlarında en fazla bulunan virülans genidir. *kpsMT II* geni ise peynir ve tavuk izolatlarında en az bulunan virülans gen olmuştur.

Aslam ve ark. [125] *fimH*, *papG II*, *kpsMT II*, *traT* ve *fyuA* virülans genlerinin varlığını analiz etmek için tavuklardan ExPEC izolatlarını izole etmişler ve 44 ExPEC izolatının 36 (%81,8)'sında *fimH* genini, 4 (%9,1)'ünde *papG II* genini, 8 (%18,18)'inde *kpsMT II* genini, 35 (%79,54)'inde *traT* genini, 8 (%18,18)'inde *fyuA* genini PCR yöntemi ile tespit etmişlerdir. Elde ettikleri bu sonuçlara göre; *E. coli* izolatlarının enfeksiyonlara neden olan çeşitli virülans genlere sahip olabileceğini ve tavuk eti güvenirliliğinin değerlendirilmesine olanak sağlayabileceğini rapor etmişlerdir. Aslam ve arkadaşlarının elde ettikleri bu sonuçları, bu tez çalışmasıyla karşılaştırdığımızda *kpsMT II* ve *traT* genlerinin sonuçlarının benzer olduğunu görmekteyiz. Yaptığımız tez çalışmasında tavuk izolatlarının; 74 (%55)'ünde *fimH* geni, 25 (%19)'inde *papG II* geni, 25 (%19)'inde *kpsMT II* geni, 99 (%73,3)'unda *traT* geni, 46 (%34,1)'sında ise *fyuA* geni tespit edilmiştir.

Guzman-Hernandez ve ark. [126]'nın yapmış oldukları bir çalışmada da Meksika'nın Tabasco eyaletindeki peynirlerden izole edilen 31 UPEC izolatında *fyuA* ve *kpsMT II* genlerinin varlığı araştırılmış ve UPEC izolatlarının %39'unda *fyuA* geni, %13'ünde ise *kpsMT II* geni PCR yöntemi ile tespit edilmiştir. Bu sonuçlarla peynirlerin

mikrobiyolojik kalitesinin düşük olduğunu ve halk sağlığını tehdit ettiğini bildirmişlerdir [126]. Bu tez çalışmasında ise peynir izolatlarının 1 (%1,2)'inde *fyuA* ve *kpsMT II* genleri tespit edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada; Müller ve ark. [127] tavuk etlerinden izole edilen 13 GSBL üreten *E. coli* izolatının 10 (%76,9)'unda *traT* genini ve 5 (%38,5)'inde *fyuA* genini PCR yöntemi ile tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında elde ettiğimiz sonuçlar da bu çalışmanın sonuçlarıyla oldukça benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda 135 tavuk izolatının 99 (%73,3)'unda *traT* geni ve 46 (%34,1)'sında *fyuA* geni tespit edilmiştir.

İdrar yolu enfeksiyonları, yetişkinlerde en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Dünyada her yıl idrar yolu enfeksiyonlarına 150 milyon kişi yakalanmaktadır. Bu enfeksiyonların tedavisi için yaklaşık 150 milyar dolar harcanmaktadır. Bu enfeksiyonlara genellikle *E. coli* neden olmaktadır [128]. İdrar yolu enfeksiyonu olan hastalardan izole edilen *E. coli* izolatları ile hayvansal gıdalardan izole edilen *E. coli* izolatları genetik olarak benzemektedir. Bu durum *E. coli* suşlarının gıdalardan insanlara geçişiyle idrar yolu enfeksiyonuna neden olduğunu göstermektedir [129].

Hashemizadeh ve ark. [18]'nin yaptığı bir çalışmada çeşitli hastanelerden idrar yolu enfeksiyonlu yatan ve ayakta tedavi edilen hastalardan izole edilen *E. coli* izolatlarında *fimH* ve *kpsMT II* genlerinin saptanması için PCR yöntemini kullanmışlardır. İdrar yolu enfeksiyonlu yatan hastalardan izole edilen 100 *E. coli* izolatının 93 (%93)'ünde *fimH* genini, 59 (%59)'unda *kpsMT II* genini ve ayakta tedavi edilen hastalardan izole edilen 150 *E. coli* izolatının 145 (%96)'inde *fimH* genini, 113 (%74,8)'ünde *kpsMT II* genini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise 283 izolatın 172 (%61)'sinde *fimH* geni tespit edilmiştir. *kpsMT II* geni de çalışmamızda daha düşük oranlarda [peynir izolatlarının 1 (%1,2)'inde, et izolatlarının 8 (%28)'inde, kıyma izolatlarının 3 (%8,1)'ünde, tavuk izolatlarının 25 (%19)'inde] bulunmuştur.

Shakhatreh ve ark. [130] idrar yolu enfeksiyonlu hastaların idrar örneklerinden izole ettikleri 227 *E. coli* suşunda *fyuA* geninin varlığını araştırmışlardır. Bu *E. coli* suşlarının 41 (%18,1)'inde *fyuA* genini tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise, 4 kıyma izolatında, 1 et izolatında, 1 peynir izolatında ve 46 tavuk izolatında olmak üzere tüm izolatların 52 (%18,4)'sinde *fyuA* geni tespit edilmiştir.

İnsanlarda yaygın olarak bulunan patojenik *E. coli* çeşitli antimikrobiyallere karşı direnç geliştirmektedir. Bu antimikrobiyal direncin farklı bölgelerde ve popülasyonlarda yüksek olması endişeye neden olmaktadır. Çünkü özellikle gelişmekte olan ülkelerde antimikrobiyallere dirençli patojenik *E. coli*'lerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi sorunludur [131]. Hayvanlarda antimikrobiyallerin büyüme faktörü olarak kullanılması bakterilerin antimikrobiyallere karşı direnç geliştirmesine neden olmaktadır. Hayvansal gıdalardaki antimikrobiyal kalıntılar ve antimikrobiyal direnç insanlara geçebilir ve bunun sonucunda bağırsakta antimikrobiyallere dirençli patojenlerin yaşaması için elverişli bir ortam oluşabilir. Bu nedenle antimikrobiyallerin hayvanlarda tedavi amaçlı kullanılmaması Türkiye ve Avrupa Birliği üyeleri arasında yasaklanmıştır [132].

Bu tez çalışmamızda yer alan bazı önemli antimikrobiyal direnç genleri ise; *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *gyrA*, *ereA* ve *dhfrV*' dir.

Çalışmamızda varlığını araştırdığımız antimikrobiyal direnç genleri farklı oranlarda tespit edilmiştir. Antimikrobiyal direnç genlerinden *gyrA* geni tüm izolatlarda ve ATCC 25922 suşunda tespit edilirken, *bla_{CTX-M}* antimikrobiyal direnç geni ise hiçbir izolatta tespit edilememiştir. Tavuk izolatlarının sadece 2 (%1,48)'sinin *ereA* antimikrobiyal direnç genini taşıdığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda kıyma izolatlarının 3 (%8,1)'ünde, tavuk izolatlarının 63 (%47)'ünde, et izolatlarının 19 (%66)'unda, peynir izolatlarının 20 (%24,4)'sinde *dhfrV* antimikrobiyal direnç geninin varlığı tespit edilmiştir. *bla_{TEM}* antimikrobiyal direnç geni kıyma izolatlarının 32 (%87)'sinde, tavuk izolatlarının 114 (%84,4)'ünde, et izolatlarının 26 (%90)'sında, peynir izolatlarının 57 (%70)'sinde tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki izolatlardan 2 (T42, T43)'sinde 4 (*gyrA*, *dhfrV*, *ereA*, *bla_{TEM}*) antimikrobiyal direnç

geni tespit edilmiştir. Diğer izolatların ise en az bir antimikrobiyal direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan *E. coli* izolatlarının bu antimikrobiyal direnç genleri ve virülans genlerini taşıması hastalıkların tedavisi için oldukça önemli bir sorunun varlığını göstermektedir.

Yun ve ark. [133] 15 idrar yolu enfeksiyonlu ve 49 asemptomatik bakteriürlü hastaların idrar örneklerinden izole ettikleri 64 *E. coli* izolatında *fimH*, *papG II*, *fyuA* ve *kpsMT II* virülans genlerinin varlığını PCR ile araştırmışlardır. 64 *E. coli* izolatının 62 (%96,9)'sinde *fimH* genini, 18 (%28,1)'inde *papG II* genini, 29 (%45,3)'unda *fyuA* genini, 54 (%84,4)'ünde *kpsMT II* genini tespit etmişlerdir ve bu çalışmada idrar örneklerinin kontaminasyon olasılığını düşünmüşlerdir. *bla_{CTX-M}* geninin neden olduğu sefotaksime direnç idrar yolu hastalarından izole edilen suşların hiçbirinde tespit edilememiştir. Yaptığımız tez çalışmasında ise tüm izolatların 172 (%61)'sinde *fimH* geni, 37 (%13,1)'sinde *kpsMT II* geni, 38 (%13,4)'inde *papG II* geni, 52 (%18,4)'sinde *fyuA* geni tespit edilmiştir ve hiçbir izolatta *bla_{CTX-M}* geni tespit edilememiştir.

Chalmers ve ark. [134]'nin yaptıkları bir çalışmada Quebec'te 2009-2013 yılları arasında tavuklardan izole edilen 586 *E. coli* izolatının 62 (%10,6)'sinde *bla_{TEM}* geni, 8 (%1,4)'inde *bla_{CTX-M}* geni, 290 (%49,5)'nında *fyuA* geni, 109 (%18,6)'unda *kpsMT II* geni PCR ile tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlar ile çalışmamızdaki sadece tavuklardan izole edilen *kpsMT II* (%19) ve *bla_{CTX-M}* (%0) geninin sonucu paralellik göstermektedir. Çalışmamızda ise tavuk izolatlarında *bla_{TEM}* (%84,4) geni daha yüksek, *fyuA* (%34,1) geni daha düşük oranlarda tespit edilmiştir. Bu sonuçların nedenleri antimikrobisellerin ülkemizde daha yaygın kullanılması ve izolatların farklı bir bölgeden elde edilmesi olabilir.

Hemeg ve ark. [129] kıyma örneklerinden 120 *E. coli* izolatını izole etmişler ve bu *E. coli* izolatlarının tamamında *bla_{TEM}* ampisilin direnç genini PCR ile tespit etmişler ve hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların sınıflandırılmasında sadece hastalara odaklanmanın gerektiğini gündeme getirmişlerdir. Çalışmamızda da 37 adet

kıyma izolatının 32 (%87)'sinde *bla_{TEM}* geninin tespit edilmiş olması bu çalışma ile bizim çalışmamızın uyumlu olduğunu göstermektedir.

Dehdashti ve ark. [135]'nin yaptıkları başka bir çalışmada da etlerden izole edilen 49 *E. coli* izolatının hiçbirinde *bla_{CTX-M}* ve *dhfrV* antimikrobiyal direnç genleri tespit edilememiştir. Bu sonuçla çalışmamızı karşılaştırdığımızda, et örneklerimizde *bla_{CTX-M}* geni tespit edilemezken, *dhfrV* geni kıyma örneklerimizin 3 (%8,1)'ünde, et örneklerimizin ise 19 (%66)'unda pozitif olarak tespit edilmiştir.

Kinolonlar hem insanlarda hem de hayvanlarda güvenli olmaları nedeniyle yaygın olarak kullanılan antimikrobisellerdir. Geniş spektrumlu, hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı etkilidirler [136]. Çalışmamızda olduğu gibi Yang ve ark. [137]'nin yaptıkları çalışmada tavuklardan izole edilen 71 *E. coli* izolatının tamamı *gyrA* genindeki mutasyonlar sonucu oluşan nalidiksik aside direnç göstermiştir. Vuthy ve ark. [8]'nin yaptıkları çalışmada ise tavuklardan izole edilen 355 *E. coli* izolatının %91'inde *gyrA* geni tespit edilmiştir. Vanni ve ark. [138]'nin yaptıkları çalışmada ise, 39 APEC izolatının 37 (%95)'sinde *gyrA* geninde mutasyonlar meydana geldiği tespit edilmiştir.

Van ve ark. [91] Vietnam'ın Ho Chi Minh şehrindeki çeşitli marketlerden satın aldıkları çiğ etlerden 38 *E. coli* izolatını izole etmişler ve bazı önemli virülans genler ve antimikrobiyal direnç genlerinin varlığını tespit etmek için PCR analizi yöntemini kullanmışlardır. Bu *E. coli* izolatlarının %84,2'sinde *bla_{TEM}* geni, %26,3'ünde *dhfrV* geni, %92,1'inde *fimH* geni, %23,7'sinde *traT* geni, %10,5'inde *fyuA* geni tespit edilmiştir. Elde ettikleri bu sonuçlara göre; çiğ gıdalardaki patojenik bakteriler ve antimikrobiyal direnci azaltmak için gıdaların uygun şekilde pişirilmesi, gıda güvenliği hakkında bilgi sahibi olunması, hayvan yemlerinde kullanılan antimikrobisellerin kullanımının ciddi bir şekilde düzenlenmesinin gerektiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarıyla çalışmamızdaki *bla_{TEM}* geninin bulunma oranı (etde %90, kıymada %87) benzerdir. Fakat çalışmamızda *dhfrV* ve *traT* genleri daha fazla, *fimH* ve *fyuA* genleri daha az tespit edilmiştir. Bu farkın izole edilen izolatların bölgesel farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülebilir.

Makrolidler enfeksiyonların tedavisinde güvenilir ve iyi bir etkinliğe sahip oldukları için kullanılmaktadır. Makrolid direnci halk sağlığı için önemli sonuçlara neden olabilir. Phuc Nguyen ve ark. [115]'nin yaptığı çalışmada insan dışkısından izole edilen 190 *E. coli* izolatının hiçbirinde *ereA* geni tespit edilememiştir. Çalışmamızda sadece 2 izolatta *ereA* geni tespit edilememiştir. Dehkordi ve ark. [139]'nin yaptıkları çalışmada ise yoğurttan izole edilen 50 *E. coli* izolatının 3 (%6)'ünde *fyuA* geni, 9 (%18)'unda *ereA* geni tespit edilmiştir. Bu sonuçlar peynir sonuçlarımızla karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda; *fyuA* geninin %1,2 (1/82) olduğu, *ereA* geninin ise hiç tespit edilemediğini görmekteyiz.

Paniagua-Contreras ve ark. [140] Meksika'da bir hastanedeki idrar yolu hastalarından izole ettikleri 194 UPEC suşunun *bla_{TEM}* ve *papG II* genlerinin varlığını araştırmışlar ve elde ettikleri bu UPEC suşlarının 51 (%26,3)'inde *bla_{TEM}* genini, 30 (%15,4)'unda *papG II* genini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda *bla_{TEM}* geni çalışılan izolatların %81 (229/283)'inde pozitif bulunmuştur. Bu genin daha yüksek oranda tespitinin nedeni ise antimikrobiklerin ülkemizde daha sık ve reçetesiz olarak kullanılması, antimikrobiyal reçetelemenin ve hijyen kontrol önlemlerinin farklı olması olabilir. Çalışmamızda *papG II* geni ise tüm izolatların 38 (%13,4)'inde tespit edilmiştir.

Ferjani ve ark. [19]'nin yaptıkları çalışmada Tunus'ta bir hastanedeki piyelonefrit hastalarından izole edilen 56 *E. coli* izolatının 50 (%89,2)'sinde *fimH* geni, 26 (%46,4)'sında *papG II* geni, 41 (%73,2)'inde *fyuA* geni, 30 (%53,5)'unda *kpsMT II* geni, 42 (%75)'sinde *traT* geni tespit edilmiştir. Sistit hastalarından izole edilen 73 *E. coli* izolatının 65 (%89,1)'inde *fimH* geni, 7 (%9,5)'sinde *papG II* geni, 44 (%60,2)'ünde *fyuA* geni, 34 (%46,5)'ünde *kpsMT II* geni, 46 (%63,1)'sında *traT* geni tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise tüm izolatların 172 (%61)'sinde *fimH* geni, 38 (%13,4)'inde *papG II* geni, 52 (%18,4)'sinde *fyuA* geni, 37 (%13,1)'sinde *kpsMT II* geni ve 164 (%58)'ünde *traT* geni tespit edilmiştir. Bu sonuçların nedeninin izolasyon kaynağından ve bölgesel farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülebilir.

Firoozeh ve ark. [141] piyelonefrit hastalarından 72 ve sistit hastalarından 78 UPEC suşunu izole etmişler ve *traT* geninin sıklığını araştırmışlardır. Elde edilen bu 72 UPEC izolatının 58 (%80,6)'inde ve sistit hastalarından izole edilen 78 UPEC izolatının 53 (%67,9)'ünde *traT* genini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise tüm izolatların %58 (164/283)'inde *traT* geni tespit edilmiştir.

Derakhshandeh ve ark. [142]'nin yaptıkları çalışmada fekal 118 *E. coli* izolatının 13 (%11)'ünde *bla_{CTX-M}* geni, 83 (%70,4)'ünde *traT* geni PCR ile tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise tüm izolatların %58 (164/283)'inde *traT* geni tespit edilirken ve izolatların hiçbirinde *bla_{CTX-M}* geni tespit edilememiştir.

Karami ve ark. [131] yaptıkları çalışmada İran'nın çeşitli illerindeki diyareli ve diyareli olmayan çocuklardan 153 GSBL üreten EPEC izole edilmiştir. Bu EPEC izolatlarının 11 (%7,2)'inde *bla_{CTX-M}* geni, 14 (%9,2)'ünde *bla_{TEM}* geni tespit edilmiştir. Elde ettikleri bu sonuçlara göre Karami ve arkadaşları, çoklu ilaç direncinin önlenmesi için diyarelerin antibiyotik tedavisinden önce antibiyogram testinin yapılması gerektiğine vurgu yapmışlardır. Çalışmamızda ise çalıştığımız izolatların hiçbirinde *bla_{CTX-M}* geni tespit edilemezken, %81 (229/283)'inde *bla_{TEM}* geni tespit edilmiştir.

Maynard ve ark. [143]'nin yaptıkları bir çalışmada ise ekstraintestinal enfeksiyonlu insanlardan izole edilen 70 ExPEC izolatının 38 (%27)'inde ve hayvanlardan izole edilen 39 ExPEC izolatının 16 (%41)'sında *dhfrV* genindeki mutasyonlar sonucu oluşan trimetoprim direnç gösterilmiştir. Maynard ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışma, bu tez çalışmasının sonuçları ile karşılaştırıldığında *dhfrV* geninin en çok et (%66) ve tavukta (%47) olmak üzere, toplam izolatlarda ise %37,1 oranında tespit edilmiştir.

Cantekin ve ark. [144] Ankara ilinde kolibasilli kanatlı hayvanlardan 200 *E. coli* suşu izole etmişler ve spesifik primerler kullanarak çeşitli virülans genlerin belirlenmesi için PCR işlemi yapmışlardır. *E. coli* suşlarının 176 (%88)'sında *fimH* geni, 180 (%90)'ninde *traT* geni tespit etmişler ve *traT* geni oranının diğer çalışmalara

göre yüksek bulunmasının nedeninin çalışılan gen bölgelerinin farklı yerlerinin çalışılmasından ve çalışmalar arasındaki bölgesel farklılıklardan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise tavuk izolatlarının 74 (%55)'ünde *fimH* geni, 99 (%73,3)'unda *traT* geni tespit edilmiştir.

Albarri ve ark. [145]'nin Adana ilinde yaptıkları bir çalışmada, çeşitli marketlerden topladıkları sebze, tavuk, et örneklerinden izole edilen 35 ve klinik örneklerden izole edilen 65 *E. coli* suşunda *fyuA* genini PCR yöntemi ile araştırmışlardır. İzolatların 17 (%17)'sinde *fyuA* genini tespit etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre; klinik ve gıdalardan izole edilen izolatların genetik olarak birbirine benzer olduğunu ve gıdalardan insanlara geçerek ekstraintestinal enfeksiyonlara sebep olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise tüm izolatların 52 (%18,4)'sinde *fyuA* geni tespit edilmiştir.

Kürekci ve ark. [146] Hatay ilindeki çeşitli market ve kasaplardan toplanan tavuklardan 52 *E. coli* suşunu izole etmişler ve 50 (%96,1)'sinde *fimH* genini, 5 (%9,6)'inde *kpsMT II* genini, 2 (%3,8)'sinde *papG II* genini, 31 (%62,3)'inde *bla_{CTX-M}* genini, 19 (%36,5)'unda *bla_{TEM}* genini belirlemişlerdir. Hayvansal kaynaklı gıdaların insanlarda, ekstraintestinal GSBL üreten *E. coli* enfeksiyonlarında önemli bir risk olduğunu bildirmişlerdir. Yine de; klinik GSBL üreten *E. coli* izolatlarının, hayvansal kaynaklı gıdalardan izole edilenlerle birlikte analiz edilmesinin Türkiye'deki potansiyel kaynağının daha iyi anlaşılmasına yardım edeceğini önermişlerdir. Çalışmamızda ise tavuk izolatlarının 74 (%55)'ünde *fimH* geni, 25 (%19)'inde *kpsMT II* geni, 25 (%19)'inde *papG II* geni, 114 (%84,4)'ünde *bla_{TEM}* geni tespit edilmişken, *bla_{CTX-M}* geni tespit edilememiştir. Bu sonuçların farklı olmasına örneklerin izole edildiği kaynakların farklı olması, coğrafik varyasyonlar ve hayvanların kesimi ve dağıtımını sırasındaki ortam hijyeninin farklı olması neden olabilir.

Pehlivanlar Önen ve ark. [147] farklı market ve kasaplardan 100 adet tavuk ve 100 adet et örnekleri toplamışlar, tavuk örneklerinin 81'inde ve et örneklerinin 7'sinde β -laktamaz üreten *E.coli* izole etmişlerdir. Tavuk izolatlarının 60'ında *bla_{CTX-M}* genini,

19'unda *bla_{TEM}* genini ve et izolatlarının 2'sinde *bla_{CTX-M}* genini, 2'sinde *bla_{TEM}* genini PCR ile belirlemişler ve pazarda satılan et ve özellikle tavuklarda GSBL üreten *E. coli* ile yüksek oranda kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise tavuk izolatlarının 114 (%84,4)'ünde, et izolatlarının 26 (%90)'sında *bla_{TEM}* geni tespit edilmiştir. Tavuk ve et izolatlarının tamamında *bla_{CTX-M}* genine rastlanmamıştır.

Araştırmalarımız sonucunda; gıda kaynaklı *E. coli* izolatlarının sahip olduğu antimikrobiyal direnç genleri ve çeşitli virülans genlerinin PCR yöntemiyle sıklıklarının tespit edilmesi ile ilgili ülkemizde çalışmalar bulunmakla beraber, çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Özellikle bizimde çalıştığımız iki gen olan *dhfrV*, *ereA* genleri ile ilgili çalışmalara da rastlanmamıştır. Bu nedenle yapılan bu tez çalışmasının bundan sonraki çalışmalar ve literatür için bir kaynak sağlayacağı inancındayız.

Sonuç olarak; elde ettiğimiz verilere göre çalışmamızda araştırılan insan sağlığı için gerekli olan kıyma, tavuk et ve peynir gibi hayvansal gıdalardan izole edilen *E. coli* izolatlarında hastalık oluşumunda rol oynayan virülans genleri ve bu hastalıkların tedavisinde kullanılan antimikrobisyonların etkisini yitirmesine neden olan antimikrobiyal direnç genleri tespit edilmiştir. Çalışmamızda virülans genleri taşıyan izolatların en az bir antimikrobiyal direnç geni taşımış olması bu virülans genleri taşıyan izolatların tedavisini zorlaştırmakta hatta imkansız hale getirmektedir. Bu nedenle ülkemizde yeni direnç genlerinin oluşmasını önlemek için çalışmalar yapılmalıdır. Çünkü bu hastalıklar için yeni ilaçlar ve tedavi yöntemlerinin geliştirmesi pahalı ve uzun zaman gerektirmektedir. Bu gıdaların *E. coli* ile kirlenmesi sonucu çeşitli hastalıklar oluştuğu için gıdaların kesiminde, saklanması ve taşınmasında yani tüketiciye ulaşana kadar olan süreçte hijyen kurallarına uyulması gerekmektedir.

Bu çalışmanın sonuçları; insanların tükettiği hayvansal gıdalarda virülans genlerin ve antimikrobiyal direnç genlerinin oldukça yaygın olduğunu moleküler yöntemlerle ortaya koymuştur ve hayvanlardan insanlara antimikrobiyal direncinin geçmesi için

potansiyel bir rezervuar olduğunu göstermiştir. Sunulan bu tez çalışması, ülkemizdeki halk sağlığı için alınacak önlemlere katkı sağlayacaktır ve bu konuda yapılacak bundan sonraki daha ileri çalışmalar için bir bilgi birikimi sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- [1] Ari, S.M., İnanç, A.L., Antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from chicken meats, KSÜ Tarım ve Doğa Derg, 21 (1): 7-12, 2018.
- [2] Heredia, N., García, S., Animals as sources of food-borne pathogens: A review, Anim Nutr, 4 (3): 250-255, 2018.
- [3] Ranjbar, R., Masoudimanesh, M., Dehkordi, F.S., Jonaidi-Jafari N., Rahimi, E., Shiga (Vero)-toxin producing *Escherichia coli* isolated from the hospital foods, virulence factors, o-serogroups and antimicrobial resistance properties, Antimicrob Resist Infect Control, 6 (4): 1-11, 2017.
- [4] Dhama, K., Chakraborty, S., Barathidasan, R., Tiwari, R., Rajagunalan S., Singh, S.D., *Escherichia coli*, an economically important avian pathogen, its disease manifestations, diagnosis and control, and public health significance: A review, Res Opin Anim Vet Sci, 3 (6): 179-194, 2013.
- [5] Lim, J.Y., Yoon, J.W., Hovde, C.J., A brief overview of *Escherichia coli* O157:H7 and its plasmid O157, J Microbiol Biotechnol, 20 (1): 5-14, 2010.
- [6] Chen, H.D., Frankel, G., Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis, FEMS Microbiology Reviews, 29: 83-98, 2005.
- [7] Munita J.M., Arias, C.A., Mechanisms of antibiotic resistance, Microbiol Spectr, 4 (2): 1-24, 2016.
- [8] Vuthy, Y., Lay, K.S., Seiha, H., Kerleguer, A., Aidara-Kane, A., Antibiotic susceptibility and molecular characterization of resistance genes among, *Escherichia coli* and among *Salmonella* subsp. in chicken food chains, Asian Pac J Trop Biomed, 7 (7): 670-674, 2017.

- [9] Aleisa, A.M., Ashgan, M.H., Alnasserallah, A.A., Mahmoud, M.H., Moussa, I.M., Molecular detection of β -lactamases and aminoglycoside resistance genes among *Escherichia coli* isolates recovered from medicinal plant, *Afr J Microbiol Res*, 7 (20): 2305-2310, 2013.
- [10] Johnson, J.R., Stell A.L., Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise, *J Infect Dis*, 181 (1): 261-272, 2000.
- [11] Franck, S.M., Bosworth, B.T., Moon, H.W., Multiplex PCR for enterotoxigenic, attaching and effacing, and shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from calves, *J Clin Microbiol*, 36 (6): 1795-1797, 1998.
- [12] Mora, A., Herrera, A., López, C., Dahbi, G., Mamani, R., Pita, J.M., Alonso, M.P., Llovo, J., Bernárdez, M.I., Blanco, J.E., Blanco, M., Blanco, J., Characteristics of the shiga-toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4 German outbreak strain and of STEC strains isolated in Spain, *Int Microbiol*, 14 (3): 121-141, 2011.
- [13] Lapage, S.P., Proposal of *Enterobacteraceae* nom. nov. as a Substitute for the Illegitimate but conserved name *Enterobacteriaceae* Rahn 1937, *IJSB*, 29 (3): 265-266, 1979.
- [14] Anonim, ITIS Standard Report Page: *Escherichia coli*, https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285#null, (Erişim tarihi: 27.03.2019)
- [15] Paul, S.K., Khan, M.S.R., Rashid, M.A., Hassan, J., Mahmud, S.M.S., Isolation and characterization of *Escherichia coli* from buffalo calves in some selected areas of Bangladesh, *Bangl. J Vet Med*, 8 (1): 23-26, 2010.

- [16] Adam, M.R., Moss, M.O., Food Microbiology (3rd Edition). *Escherichia coli*. 216-224. Royal Society of Chemistry, Guildford, 2008.
- [17] Sussman, M., *Escherichia Coli: Mecanisms of virulence. Escherichia coli and human diseases*. 3-6. Cambridge Press, New York, 1997.
- [18] Hashemizadeh, Z., Kalantar-Neyestanaki, D., Mansouri, S., Association between virulence profile, biofilm formation and phylogenetic groups of *Escherichia coli* causing urinary tract infection and the commensal gut microbiota: A comparative analysis, *Microb Pathog*, 110: 540-545, 2017.
- [19] Ferjani, S., Saidani, M., Ennigrou, S., Hsairi, M., Ben Redjeb, S., Virulence determinants, phylogenetic groups and fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolated from cystitis and pyelonephritis, *Pathol Biol (Paris)*, 60 (5): 270-274, 2012.
- [20] Miotto, M., Fonseca A.A.J., Barretta, C., da Silva, H.S., Pellizzaro, T., De Dea Lindner J., Vieira, C.R.W., Parveen, S., Prudencio, E.S., Development and application of a real-time polymerase chain reaction method for quantification of *Escherichia coli* in oysters (*Crassostrea gigas*), *Food Microbiol*, 77: 85-92, 2019.
- [21] Ferjani, S., Saidani, M., Maamar, E., Harbaoui, S., Hamzaoui, Z., Hosni, H., Amine, FS., Boubaker I.B.B., *Escherichia coli* colonizing healthy children in Tunisia: High prevalence of extra-intestinal pathovar and occurrence of non ESBL-producing ST131 clone, *Int J Antimicrob Agents*, 52 (6): 878-885, 2018.
- [22] Lei, L., Rehman, M.U., Huang, S., Zhang, L., Wang, L., Mehmood, K., Zhang, H., Tong, X., Wang, M., Li, J., Antimicrobial resistance and prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* (DEC), in diarrheic yaks of Tibetan Plateau, China, *Acta Trop*, 182: 111-114, 2018.

- [23] Chouikha, I., Germon, P., Brée, A., Gilot, P., Moulin-Schouleur, M., Schouler, C., A selC-associated genomic island of the extraintestinal avian pathogenic *Escherichia coli* strain BEN2908 is involved in carbohydrate uptake and virulence, *J Bacteriol*, 188 (3): 977-987, 2006.
- [24] Ferreira, J.C., Penha, Filho, R.A.C., Kuaye, A.P.Y., Andrade, L.N., Chang, Y. F., Darini, A.L.C., Virulence potential of commensal multidrug resistant *Escherichia coli* isolated from poultry in Brazil, *Infect Genet Evol*, 65: 251-256, 2018.
- [25] Wiles, T.J., Kulesus, R.R., Mulvey, M.A., Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*, *Exp Mol Pathol*, 85 (1): 11-19, 2008.
- [26] Ewers, C., Li, G., Wilking, H., Kiessling, S., Alt, K., Antão, E.M., Laturus, C., Diehl, I., Glodde, S., Homeier, T., Böhnke, U., Steinrück, H., Philipp, H.C., Wieler, L.H., Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they?, *Int J Med Microbiol*, 297 (3): 163-176, 2007.
- [27] Habibi, M., Asadi Karam, M.R., Bouzari, S., Evaluation of prevalence, immunogenicity and efficacy of FyuA iron receptor in uropathogenic *Escherichia coli* isolates as a vaccine target against urinary tract infection, *Microbial Pathog*, 110: 477-483, 2017.
- [28] Bower, J.M., Eto, S.D., Mulvey, M.A., Covert operations of uropathogenic *Escherichia coli* within the urinary tract, *Traffic*, 6 (1): 18-31, 2005.
- [29] La Ragione, R.M., Woodward, M.J., Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia, *Res in Vet Sci*, 73 (1): 27-35, 2002.

- [30] Chanteloup, N.K., Porcheron, G., Delaleu, B., Germon, P., Schouler, C., Moulin-Schouleur, M., Gilot, P., The extra-intestinal avian pathogenic *Escherichia coli* strain BEN2908 invades avian and human epithelial cells and survives intracellularly, *Vet Microbiol*, 147: 435-439, 2011.
- [31] B'elanger, L., Garenaux, A., Harel, J., Boulianne, M., Nadeau, E., C.M., Dozois, *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*, *FEMS Immunol Med Microbiol*, 62 (1): 1-10, 2011.
- [32] Conceição, R.A., Ludovico, M.S., Andrade, C.G., Yano, T., Human sepsis-associated *Escherichia coli* (SEPEC) is able to adhere to and invade kidney epithelial cells in culture, *Braz J Med Biol Res*, 45 (5): 417-424, 2012.
- [33] Nataro, J.P., Kaper, J.B., Diarrheagenic *Escherichia coli*, *Clin Microbiol Rev*, 11 (1): 142-201, 1998.
- [34] Gomes, T.A., Elias W.P., Scaletsky I.C., Guth B.E., Rodrigues J.F., Piazza R.M., Ferreira L.C., Martinez M.B., Diarrheagenic *Escherichia coli*, *Braz J Microbiol*, 47 Suppl 1: 3-30, 2016.
- [35] Scaletsky, I.C.A., Fabbriotti S.H., Carvalho R.L., Nunes C.R., Maranhão H.S., Morais M.B., Fagundes-Neto U., Diffusely adherent *Escherichia coli* as a cause of acute diarrhea in young children in Northeast Brazil: a case-control study, *J Clin Microbiol*, 40 (2): 645-648, 2002.
- [36] Maktabi, S., Zarei, M., Mohammadpour, H., Isolation and molecular characterization of non-sorbitol fermenting *Escherichia coli* isolated from fresh ground beef, *Jundishapur J Health Sci*, 8 (1): 20-24, 2016.
- [37] Sjöling, A., Qadri F., Nicklasson M., Begum Y.A., Wiklund G., Svennerholm A.M., In vivo expression of the heat stable (*estA*) and heat labile (*eltB*) toxin

genes of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), *Microbes and Infect*, 8: 2797-2802, 2006.

- [38] Fleckenstein, J.M., Hardwidge, P.R., Munson, G.P., Rasko, D.A., Sommerfelt, H., Steinsland, H., Molecular mechanisms of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection, *Microbes and Infect*, 12: 89-98, 2010.
- [39] Michie, K.A., Boysen A., Low, H.H., Møller-Jensen, J., Löwe, J., LeoA, B and C from enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) are bacterial dynamins, *Plos One*, 9 (9): 1-10, 2014.
- [40] Anonim, Virulence gene, agent. <https://www.encyclopedia.com/humanities/dictionaries-thesauruses-pictures-and-press-releases/virulence-gene>, (Erişim tarihi: 14.03.2019)
- [41] Anonim, Virülans Faktörler, <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeKardes.aspx?F6E10F8892433CFFA79D6F5E6C1B43FFEE3D5606F4BDF7C8>, (Erişim tarihi: 14.03.2019).
- [42] Antão, E.M., Wieler, L.H., Ewers, C., Adhesive threads of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, *Gut Pathog*, 1 (22): 1-12, 2009.
- [43] Krogfelt, K.A., Bergmans, H., Klemm, P., Direct evidence that the FimH protein is the mannose-specific adhesin of *Escherichia coli*, type 1 fimbriae, *Infect Immun*, 58 (69): 1995-1998, 1990.
- [44] Mulvey, A.M., Schilling D.J., Martinez, J.J., Hultgren, J.S., Bad bugs and beleaguered bladders: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses, *PNAS*, 97 (16): 8829-8835, 2000.

- [45] Lawlor, M.S., O'Connor, C., Miller, V.L., Yersiniabactin is a virulence factor for *Klebsiella pneumoniae* during pulmonary infection, *Infect Immun*, 75 (3): 1463-1472, 2007.
- [46] Garcia, E.C., Brumbaugh, A.R., Mobley, H.L., Redundancy and specificity of *Escherichia coli* iron acquisition systems during urinary tract infection, *Infect Immun*, 79 (3): 1225-1235, 2011.
- [47] Erdem, B., Mikrobiyal sideroforlar ve biyoteknolojideki uygulama alanları, *KFBD*, 3 (8): 77-88, 2013.
- [48] Hancock, V., Ferriere, L., Klemm, P., The ferric yersiniabactin uptake receptor FyuA is required for efficient biofilm formation by urinary tract infectious *Escherichia coli* in human urine, *Microbiology*, 154: 167-175, 2008.
- [49] Cress, B.F., Englaender, J.A., He W., Kasper, D., Linhardt, R.J., Koffas, M.A., Masquerading microbial pathogens: Capsular polysaccharides mimic host-tissue molecules, *FEMS Microbiol Rev*, 38 (4): 660-697, 2014.
- [50] Whitfield, C., Paiment, A., Biosynthesis and assembly of group 1 capsular polysaccharides in *Escherichia coli* and related extracellular polysaccharides in other bacteria, *Carbohydr Res*, 338 (23): 2491-2502, 2003.
- [51] Xue, P., Corbett, D., Goldrick, M., Naylor, C., Roberts, I.S., Regulation of expression of the region 3 promoter of the *Escherichia coli* K5 capsule gene cluster involves H-NS, SlyA, and a large 5' untranslated region, *J Bacteriol*, 191 (6): 1838-1846, 2009.
- [52] Johnson, J.R., Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection, *Clin Microbiol Rev*, 4 (1): 80-128, 1991.

- [53] Sukupolvi, S., O'Connor, C.D., TraT lipoprotein, a plasmid-specified mediator of interactions between gram-negative bacteria and their environment, *Microbiol Rev*, 54 (4): 331-341, 1990.
- [54] Manning, P.A., Beutin, L., Achtman, M., Outer membrane of *Escherichia coli*: properties of the f sex factor traT protein which is involved in surface exclusion, *J Bacteriol*, 142 (1): 285-294, 1980.
- [55] Moll, A., Manning, P.A., Timmis, K.N., Plasmid-determined resistance to serum bactericidal activity: a major outer membrane protein, the *traT* gene product, is responsible for plasmid-specified serum resistance in *Escherichia coli*, *Infect Immun*, 28 (2): 359-367, 1980.
- [56] Slavchev, G., Pisarevaand, E., Markova, N., Virulence of uropathogenic *Escherichia coli*; *JCC*, 6: 3-9, 2008-2009.
- [57] Mulvey, M.A., Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*, *Cell Microbiol*, 4 (5): 257-271, 2002.
- [58] Roberts, J.A., Marklund, B.I., Ilver, D., Haslam, D., Kaack, M.B., Baskin, G., Louis, M., Möllby, R., Winberg, J., Normark, S., The Gal(α -4)Gal-specific tip adhesin of *Escherichia coli* P-fimbriae is needed for pyelonephritis to occur in the normal urinary tract, *Proc Natl Acad Sci*, 91 (25): 11889-11893, 1994.
- [59] Johnson, J.R., Stell, A.L., Kaster, N., Fasching, C., O'Bryan, T.T., Novel molecular variants of allelel of the *Escherichia coli* p fimbrial adhesin gene *papG*, *Infect Immun*, 69 (4): 2318-2327, 2001.
- [60] Topal, M., Uslu Şenel, G., Arslan Topal, E.I., Öbek, E., Antibiyotikler ve kullanım alanları, *Erciyes Üniv Fen Bilimleri Enstitüsü Derg*, 31 (3): 121-127, 2015.

- [61] Khan, F., Antibiotics classification and visual target sites for bacterial inhibition, *Adv Pharmacol Clin Trials*, 3 (3): 1-3, 2018.
- [62] Etebu, E., Arikekpar, I., Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives, *IJAMBR*, 4: 90-101, 2016.
- [63] Percival, K.,M., Antibiotic classification and indication review for the infusion nurse, *J Infus Nurs*, 40 (1): 55-63, 2017.
- [64] Gülay, Z., Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller, *Ankem Derg*, 17 (3): 192-204, 2003.
- [65] Ulutan, F., Yeni kinolonlar ve solunum sistemi infeksiyonlarında kullanımı, *Flora*, 8 (1): 32-39, 2003.
- [66] Simon, C., Stille, K. W., Hastanede ve Muayene Hekimliğinde Antibiyotik Tedavisi. Nobel Tıp Kitapevleri, Frankfurt, 2008.
- [67] Palzkill, T., Structural and mechanistic basis for extended-spectrum drug resistance mutations in altering the specificity of TEM, CTX-M, and KPC β -lactamases, *Front Mol Biosci*, 5 (16): 1-19, 2018.
- [68] Therrien, C., Levesque, R.C., Molecular basis of antibiotic resistance and beta-lactamase inhibition by mechanism-based inactivators: perspectives and future directions, *FEMS Microbiol Rev*, 24 (3): 251-262, 2000.
- [69] Yocum, R.R., Rasmussen, J.R., Strominger, J.L., The mechanism of action of penicillin, *J Biol Chem*, 255 (9): 3977-3986, 1980.
- [70] Kurt, H., Sefalosporinler, *Güncel Gastroenterol*, 1 (2): 197-202, 1997.

- [71] Jaktaji, R.P., Mohiti, E., Study of mutations in the DNA gyrase gyrA gene of *Escherichia coli*, Iran J of Pharm Res, 9 (1): 43-48, 2010.
- [72] Günali, E., Erdem, H., Kinolonlar, İç Hastalıkları Derg, 21: 69-85, 2014.
- [73] Nazik, H., Öngen, B., Türkiye’de plazmit aracılı kinolon direnci, Ankem Derg, 24 (1): 46-54, 2010.
- [74] Fàbrega, A., Madurga, S., Giralt, E., Vila, J., Mechanism of action of and resistance to quinolones, Microb Biotechnol, 2 (1): 40-61, 2009.
- [75] Güreli, H., Sığırlarda solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler, Vet Hekimler Derneği Derg, 80 (3): 29-33, 2009.
- [76] Vester, B., Douthwaite, S., Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA, Antimicrob Agents Chemother, 45 (1): 1-12, 2001.
- [77] Bayındır, Y., 1986’dan 2010’a Makrolidler, Ankem Derg, 24: 19-26, 2010.
- [78] Yonar, M.E., Sağlam, N., Sülfonamidler ve balıklarda kullanımı, Menba Su Ürünleri Fakült Derg, 1: 37-42, 2013.
- [79] Saran, B., Karahan, C.Z., Antimikrobiyal ajanlara genel bakış, Turk Urol Sem, 1: 216-220, 2010.
- [80] Byrne-Bailey, K.G., Gaze, W.H., Kay, P., Boxall, A.B., Hawkey, P.M., Wellington, E.M., Prevalence of sulfonamide resistance genes in bacterial isolates from manured agricultural soils and pig slurry in the United Kingdom, Antimicrob Agents Chemother, 53 (2): 696-702, 2009.

- [81] Bergmann, R., van der Linden, M., Chhatwal, G.S., Nitsche-Schmitz, D.P., Factors that cause trimethoprim resistance in *Streptococcus pyogenes*, *Antimicrob Agents Chemother*, 58 (4): 2281-2288, 2014.
- [82] Huovinen, P., Trimethoprim resistance, *Antimicrob Agents Chemother*, 31 (10): 1451-1456, 1987.
- [83] Ermertcan, Ş., Yılmaz, F.F., Taşlı, H., Yurtman, A.N., Aydemir, S.Ş., Hoşgör Limoncu, M., Aminoglikozit dirençli Gram negatif bakterilerde plazmid aracılı metilaz genlerinin araştırılması, *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 43 (1): 12-16, 2013.
- [84] Aynali, G., Aminoglikozit ototoksitesini önleme, *SDÜ Tıp Fak Derg*, 16 (2): 39-44, 2009.
- [85] Yılmaz, İ., Nöroprotektif tedavide yeni bir ilaç hedefi: İkinci jenerasyon tetrasiklinler, *SDÜ Tıp Fak Derg*, 14(1): 47-52, 2007.
- [86] Öncül, O., Vankomisin ve teikoplanin hikayesi, *Ankem Derg*, 24 (Ek 2): 101-109, 2010.
- [87] Acar, M., Somer, A., Salman, N., Yeni Antibiyotikler, *Çocuk Derg*, 15 (3-4): 99-103, 2015.
- [88] Korten, V., Linezolid, *Ankem Derg*, 18 (Ek 2): 178-180, 2004.
- [89] Akkan, H.A., Karaca, M., Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı, *YYÜ Vet Fak Derg*, 14 (2): 72-77, 2003.
- [90] Cesur, S., Demiröz, A.P., Antibiotics and the mechanisms of resistance to antibiotics, *Med J Islamic World Acad of Sci*, 21 (4): 138-142, 2013.

- [91] Van, T.T., Chin, J., Chapman, T., Tran, L.T., Coloe, P.J., Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes, *Int J Food Microbiol*, 124 (3): 217-223, 2008.
- [92] Delmani, F.A., Jaran, A.S., Tarazi, Al Y., Masaadeh, H., Zaki, O., Characterization of ampicillin resistant gene (*blaTEM-1*) isolated from *E. coli* in Northern Jordan, *Asian J Biomed Pharmaceut Sci*, 7 (61): 11-15, 2017.
- [93] Bush, K., Jacoby, G.A., Updated functional classification of β -Lactamases, *Antimicrob Agents Chemother*, 54 (3): 969-976, 2010.
- [94] Bradford, P.A., 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.
- [95] Yüce, A., Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları, *Klimik Derg*, 2: 41-46, 2001.
- [96] Bal, Ç., Beta-Laktamazlar: güncel durum, *Flora*, 8 (2): 111-123, 2008.
- [97] Cengiz, M., Bakterilerde kinolon direncinin genetiği, *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 29 (1): 55-60, 2010.
- [98] Leclercq, R., Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications, *Clin Infect Dis*, 34 (4): 482-92, 2002.
- [99] Arthur, M., Andremont, A., Courvalin, P., Distribution of erythromycin esterase and rRNA methylase genes in members of the family *Enterobacteriaceae* highly resistant to erythromycin, *Antimicrob Agents Chemother*, 31 (3): 404-409, 1987.

- [100] Volokhov, D., Chizhikov, V., Chumakov, K., Rasooly, A., Microarray analysis of erythromycin resistance determinants, J Appl Microbiol, 95 (4): 787-798, 2003.
- [101] Caner, V., Çarlı, K.T., Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve bazı tavuk infeksiyonlarındaki yeri, J Fac Vet Med, 20: 137-145, 2001.
- [102] Rahman, M.T., Uddin, M.S., Sultana, R., Moue, A., Setu, M., Polymerase Chain Reaction (PCR): A short review, AKMMC J, 4 (1): 30-36, 2013.
- [103] Klug, W.S., Cumings, M.R., Spencer, C.A., Genetik Kavramlar, Palme yayıncılık, Ankara, 19: 466-467, 2011.
- [104] Yıldırım, A., Kandemir, N., Ateş Sönmezoğlu, Ö., Güleç, T., Buğdayda Polimeraz Zincir Reaksiyonu, ve olası sorunların optimizasyonu, Anadolu Tarım Bilim Derg, 26 (1): 36-39, 2011.
- [105] Kahya, S., Buyukcangaz, E., Carlı, K.T., Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) optimizasyonu, Uludag Univ J Fac Vet Med, 32 (1) : 31-38, 2013.
- [106] Joshi, M., Deshpande J.D, Polymerase Chain Reaction: methods, principles and application, IJBR, 1 (5): 81-97, 2010.
- [107] Devrim, A.K., Kaya, N., Polimer Zincir Reaksiyonu, Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 10 (2): 209-204.
- [108] Okutucu, B., Pehlivan, S., Revers-transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve uygulama alanları, ARŞİV, 12: 138-147, 2003.
- [109] Güler, L., Gündüz, K., Virulence Properties of *Escherichia coli* isolated from clinical bovine mastitis, Turk J Vet Anim Sci, 31 (5): 361-365, 2007.

- [110] Johnson, J.R., Development of polymerase chain reaction-based assays for bacterial gene detection, *J Microbiol Methods*, 41 (3): 201-209, 2000.
- [111] Le Bouguenec, C., Archambaud, M., Labigne A., Rapid and specific detection of the *pap*, *afa*, and *sfa* adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by Polymerase Chain Reaction, *J Clin Microbiol*, 30 (5): 1189-1193, 1992.
- [112] Gür, D., Antibiyotik duyarlılık testleri, EUCAST: Uygulama, yorum ve uzman kurallar, *TMC*, 46: 1-206, 2016.
- [113] Balakrishnan, S., Antony P.X., Mukhopadhyay, H.K., Pillai, R.M., Thanislass, J., Padmanaban, V., Srinivas, M.V., Genetic characterization of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* associated with bovine mastitis in India, *Vet World*, 9 (7): 705-709, 2016.
- [114] Belmar Campos, C., Fenner, I., Wiese, N., Lensing, C., Christner, M., Rohde, H., Aepfelbacher, M., Fenner, T., Hentschke, M., Prevalence and genotypes of extended spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* isolated from human stool and chicken meat in Hamburg, Germany, *Int J Med Microbiol*, 304: 678-684, 2014.
- [115] Phuc Nguyen, M.C., Woerther P.L., Bouvet M., Andremont A., Leclercq R., Canu A., *Escherichia coli* as reservoir for macrolide resistance genes, *Emerg Infect Dis*, 15 (10): 1648-1650, 2009.
- [116] Pitout, J.D., Thomson K.S., Hanson N.D., Ehrhardt A.F., Moland E.S., Sanders C.C., Beta-lactamases responsible for resistance to expanded-spectrum cephalosporins in *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis* isolates recovered in South Africa, *Antimicrob Agents Chemother*, 42 (6): 1350-1354, 1998.

- [117] Anonim, CDC Estimates of food borne Illness in the United States, Centers for Disease Control and Prevention(CDC), 2011. www.cdc.gov/foodnet/reports/index.html (Erişim tarihi: 17.06.2018)
- [118] European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC), The European Union summary report on trend and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013, EFSAJ, 13 (1): 165, 2015.
- [119] Öz, V., Karadayı, ř., Çakan, H., Karadayı, B., Kaya, A., Acil tedavi birimlerinde gıda zehirlenmeleri, Marmara Med J, 27: 89-95, 2014.
- [120] Quigley, L., O’Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T.P., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Cotter, P.D., The complex microbiota of raw milk, FEMS Microbiol Rev, 37 (5): 664-698, 2013.
- [121] Ertaş, N., Yıldırım, Y., Karadal, F., Al, S., Hayvansal gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7’nin önemi, Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 10 (1): 45-52, 2013.
- [122] Watts, R.E., Hancock, V., Ong, Cheryl-Lynn Y., Vejborg, R.M., Mabbett, A.N., Totsika, M., Looke, D.F., Nimmo, G.R., Klemm, P., Schembri, M.A., *Escherichia coli* isolates causing asymptomatic bacteriuria in catheterized and noncatheterized individuals possess similar virulence properties, J Clin Microbiol, 48 (7): 2449-2458, 2010.
- [123] Postollec, F., Falentin, H., Pavan, S., Combrisson, J., Sohier, D, Recent advances in quantitative PCR (qPCR) applications in food microbiology, Food Microbiol, 28 (5): 848-861, 2011.
- [124] Fukushima, H., Kawase, J., Etoh, Y., Sugama, K., Yashiro, S., Iida, N., Yamaguchi K., Simultaneous screening of 24 target genes of foodborne pathogens in 35 foodborne outbreaks using multiplex real-time SYBR green PCR analysis, Int J Microbiol, 2010: 1-18, 2010.

- [125] Aslam, M., Toufeer, M., Narvaez Bravo, C., Lai, V., Rempel, H., Manges, A., Diarra, M.S., Characterization of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from retail poultry meats from Alberta, Canada, *Int J Food Microbiol.*, 177: 49-56, 2014.
- [126] Guzman-Hernandez, R., Contreras-Rodriguez A., Hernandez-Velez R., Perez-Martinez I., Lopez-Merino A., Zaidi M.B., Estrada-Garcia T., Mexican unpasteurised fresh cheeses are contaminated with *Salmonella* spp. non-O157 shiga toxin producing *Escherichia coli* and potential uropathogenic *E. coli* strains: A public health risk, *Int J Food Microbiol*, 237: 10-16, 2016.
- [127] Müller, A., Stephan, R., Nüesch-Inderbinen, M., Distribution of virulence factors in ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from the environment, livestock, food and humans, *Sci Total Environ*, 541: 667-672, 2016.
- [128] Doğru, A., Üçışık, A.C., Sargın, F., Aydın, Ö., Ergen, P., Tükenmez Tigen, E., İdrar örneklerinde üretilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları, *Göztepe Tıp Derg*, 29 (4): 219-224, 2014.
- [129] Hemeg, H.A., Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* isolates recovered from food samples and outpatient Clinics, KSA, *Saudi J of Biol Sci*, 25 (5): 928-931, 2018.
- [130] Shakhathreh, M.A.K., Swedan, S.F., Al-Odat, M.A., Khabour, O.F., Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in Jordan: Prevalence of urovirulence genes and antibiotic resistance, *JKSU*, 1-5, 2018.
- [131] Karami, P., Bazmamoun, H., Sedighi, I., Sasan A., Nejad, M., Aslani, M.M., Alikhani, M.Y., Antibacterial resistance patterns of extended spectrum beta-lactamase - producing enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from children, *AJG*, 18: 206-209, 2017.

- [132] Filazi, A., Yurdakök Dikmen, B., Kuzukıran, Ö., Antibiotic resistance in poultry, *Turkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 1 (2): 42-51, 2015.
- [133] Yun, K.W., Kim, H.Y., Park, H.K., Kim, W., Lim, I.S., Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children, *J Microbiol Immunol and Infect*, 47 (6): 455-461, 2014.
- [134] Chalmers, G., Cormier, A.C., Nadeau, M., Côté, G., Reid-Smith, R.J., Boerlin P., Determinants of virulence and of resistance to ceftiofur, gentamicin, and spectinomycin in clinical *Escherichia coli* from broiler chickens in Québec, Canada, *Vet Microbiol*, 203: 149-157, 2017.
- [135] Dehdashti, S., Ghanbarpour, R., Hajikolaei, M.R.H., Molecular detection of Shiga toxin-producing and antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from buffaloes in southwest of Iran, *Trop Anim Health Prod*, 51 (6): 1725-1736, 2019.
- [136] Balakrishnan, S., Antony, P.X., Mukhopadhyay, H.K., Pillai, R.M., Thanislass, J., Padmanaban V., Srinivas, M.V., Genetic characterization of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* associated with bovine mastitis in India, *Vet World*, 9 (7): 705-709, 2016.
- [137] Yang, H., Chen, S., White, D.G., Zhao, S., McDermott, P., Walker, R., Meng, J., Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China, *J Clin Microbiol*, 42 (8): 3483-3489, 2004.
- [138] Vanni, M., Meucci, V., Tognetti, R., Cagnardi, P., Montesissa, C., Piccirillo, A., Rossi, A.M., Bello, D.D., Intorre, L., Fluoroquinolone resistance and molecular characterization of *gyrA* and *parC* quinolone resistance-determining

- regions in *Escherichia coli* isolated from poultry, *Poult Sci*, 93 (4): 856-863, 2014.
- [139] Dehkordi, F.S., Yazdani, F., Mozafari J., Valizadeh, Y., Virulence factors, serogroups and antimicrobial resistance properties of *Escherichia coli* strains in fermented dairy products, *BMC Res Notes*, 7 (217): 1-8, 2014.
- [140] Paniagua-Contreras, G.L., Hernández-Jaimes, T., Monroy-Pérez, E., Vaca-Paniagua, F., Díaz-Velásquez, C., Uribe-García, A., Vaca, S., Comprehensive expression analysis of pathogenicity genes in uropathogenic *Escherichia coli* strains, *Microb Pathog*, 103: 1-7, 2017.
- [141] Firoozeh, F., Saffari M., Neamati F., Zibaei M., Detection of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with cystitis and pyelonephritis, *Int J Infect Dis*, 29: 219-222, 2014.
- [142] Derakhshandeh, A., Eraghi V., Boroojeni A.M., Niaki M.A., Zare S., Naziri Z., Virulence factors, antibiotic resistance genes and genetic relatedness of commensal *Escherichia coli* isolates from dogs and their owners, *Microb Pathog*, 116: 241-245, 2018.
- [143] Maynard, C., Bekal S., Sanschagrin F., Levesque R.C., Brousseau R., Masson L., Larivière S., Harel J., Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profiles of extraintestinal *Escherichia coli* isolates of animal and human origin, *J of Clin Microbiol*, 42 (12): 5444-5452, 2004.
- [144] Cantekin, Z., İzgür M., Detection of virulence properties *Escherichia coli* originated from poultry by phenotypic and molecular methods, *Van Vet J*, 26 (2): 71-76, 2015.
- [145] Albarri, O., Investigation of the occurrence of siderophore genes in *E.coli* isolated from foodborne and clinical samples and identification of genotypic

relationship of *Escherichia coli* by using PFGE method. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana, 2018.

[146] Kürekci, C., Osek, J., Aydın, M., Tekeli, İ.O., Kurpas, M., Wiczorek, K., Sakin, F., Evaluation of bulk tank raw milk and raw chicken meat samples as source of ESBL producing *Escherichia coli* in Turkey: Recent insights, J Food Saf, e12605, 1-7, 2018.

[147] Pehlivanlar Önen, S., Aslantaş, Ö., Yılmaz, E.Ş., Kürekci, C., Prevalence of β -Lactamase producing *Escherichia coli* from retail meat in Turkey, J Food Sci, 80 (9): 2023-2029, 2015.