



**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PERAKENDE OLARAK SATIŞA SUNULAN KANATLI
ETLERİNDE GSβL, AMP-C ve KARBAPENEMAZ ÜRETEEN *E.*
COLİ SUŞLARININ ANTİMİKROBİYAL DİRENCİNİN MIC,
KLASİK PCR ve LAMP PCR ANALİZLERİ İLE
ARAŞTIRILMASI**

VETERİNER HEKİM

GÜLÇİN GÜVEN

VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sibel KIZIL**

KIRIKKALE-2022

Vet. Hek. Gülçin GÜVEN tarafından hazırlanan ‘PERAKENDE OLARAK SATIŞA SUNULAN KANATLI ETLERİNDE GSßL, AMP-C ve KARBAPENEMAZ ÜRETEN *E. COLİ* SUŞLARININ ANTİMİKROBİYAL DİRENCİNİN MIC, KLASİK PCR ve LAMP PCR ANALİZLERİ İLE ARAŞTIRILMASI’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Kırıkkale Üniversitesi.....Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Sibel KIZIL

Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı
Kırıkkale Üniversitesi

İmza

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Başkan: Prof. Dr. Murat YILDIRIM

Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı
Kırıkkale Üniversitesi

İmza

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Üye: Prof. Dr. Oktay KESKİN

Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı
Harran Üniversitesi

İmza

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Tez Savunma Tarihi: .././...

Juri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gereken şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet Akif KARSLI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>E. coli</i> Genel Özellikleri.....	2
1.2. <i>E. coli</i> Alt Tipleri.....	3
1.2.1. İntestinal Patojenler.....	3
1.2.1.1. Enteropatojenik <i>E. coli</i>	3
1.2.1.2. Enterotoksijenik <i>E. coli</i>	4
1.2.1.3. Enteroinvaziv <i>E. coli</i>	4
1.2.1.4. Diffüz Adherent <i>E. coli</i>	4
1.2.1.5. Enteroagregatif <i>E. coli</i>	5
1.2.1.6. Enterohemorajik <i>E. coli</i>	5
1.2.2. Ekstraintestinal <i>E. coli</i> Patojenleri.....	6
1.2.2.1. Septisemik <i>E. coli</i>	6
1.2.2.2. Üropatojenik <i>E. coli</i>	6
1.2.2.3. Avian Patojenik <i>E. coli</i>	6
1.3. Antibiyotikler.....	6
1.4. Geniş Spektrumlu Beta Laktam, Ampicilin-C ve Karbapenem.....	7

1.4.1. Bush-Mederios-Jacoby Sınıflandırması.....	7
1.4.1.1. Grup 1.....	7
1.4.1.2. Grup 2.....	7
1.4.1.3. Grup 3.....	8
1.4.1.4. Grup 4.....	8
1.4.2. Ambler Sınıflandırması.....	9
1.4.2.1. Grup A.....	9
1.4.2.2. Grup B.....	15
1.4.2.3. Grup C.....	15
1.4.2.4. Grup D.....	16
1.5. Antimikrobiyal Direnç	16
1.5.1. Doğal Direnç.....	16
1.5.2. Kazanılmış Direnç.....	17
1.5.2.1. Kromozomal Direnç.....	18
1.5.2.2. Ekstrakromozomal Direnç.....	18
1.5.2.3. Çapraz Direnç.....	19
1.6. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları.....	19
1.6.1. Makrolit Grubu Antibiyotiklere Direnç Mekanizması.....	19
1.6.2. Glikopeptid Yapısındaki Antibiyotiklerde Direnç Mekanizması.....	20
1.6.3. Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direnç Mekanizması.....	21
1.6.4. Kloramfenikol Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç.....	21
1.6.5. Tetrasiklin Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç.....	21
1.6.6. Rifampisin Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç.....	21
1.6.7. Sülfonamid-Trimetoprim Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç.....	21
1.6.8. Beta Laktam Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç.....	22
1.7. <i>E. coli</i> 'ye Karşı Oluşan Antimikrobiyal Direncin Dünya ve Türkiye'deki Durumu.....	23
2. MATERYAL-METOD.....	27

3. BULGULAR.....	35
4. TARTIŞMA.....	46
5. SONUÇLAR.....	51
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	59



ÖZET

PERAKENDE OLARAK SATIŞA SUNULAN KANATLI ETLERİNDE GSβL,
AMP-C ve KARBAPENEMAZ ÜRETEN *E. COLI* SUŞLARININ
ANTİMİKROBİYAL DİRENCİNİN MIC, KLASİK PCR ve LAMP PCR
ANALİZLERİ İLE ARAŞTIRILMASI

Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sibel KIZIL

Ocak 2022, 55 sayfa

Kanatlı hayvanların yetiştirilmesi esnasında görülen bazı bakteriyel enfeksiyonları baskılamak amacıyla kullanılan antimikrobiyal ajanlar; yoğun bir şekilde ve bilinçsizce kullanıldığında kanatlı hayvanlarda da antibiyotiklere karşı direnç oluşturmaktadır. Kanatlılarda, *E. coli* normal bağırsak florasında mevcut olup, floranın bozulması sonucu çeşitli enfeksiyonlar neden olmaktadır.

Bu çalışmada; marketlerde satılan farklı markalara ait tavuk göğüs etlerinden izole edilen GSβL, Amp-c ve Karbapenemaz üreten *E.coli* suşlarının antibiyotik direnç özelliklerinin disk difüzyon ve E test (MIC) ile belirlenmiş; antibiyotik direnç genlerinin ise Klasik PCR ve LAMP PCR metotlarıyla belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda alınan 100 adet tavuk göğüs etinin (fileto), 7 tanesinden *E.coli* suşları izole edilmiş ve hızlı idendifikasyon sistemi (BBL Crystal) ile doğrulanmıştır. İzolatların disk difüzyon test sonuçları EUCAST ve CLSI'a göre değerlendirilmiş ve tetrasikline %100; ampisilin, ciprofloksasin, sefoksitin, nalidiksik asit, oksitetrasikline %85; seftazidime %57, kloramfenikole %71, trimethoprim/sulfomeametoksazol, sefotaksime %42; gentamisine %14 oranında dirençlilik

görülmüştür. Ayrıca izolatların hepsi (%100) meropeneme duyarlı bulunmuştur. İzolatların E-Test (MIC) sonuçları EUCAST, CLSI ve EURL-AR'a göre değerlendirilmiş ve 1 adet izolatta GSβL, 4 adet izolatta ise Amp-c aktivitesi saptanmıştır. Karbapenemaz aktivitesi izolatların hiçbirinde saptanmamıştır. Antibiyotik direnç genlerinin tespiti için DNA'lar izole edildikten sonra Klasik PCR ve LAMP PCR testleri yapılmıştır. Klasik PCR için uygun primerler ile çalışılmış; elektroforezde oluşan bantlar değerlendirilmiştir. LAMP PCR metodunda ise uygun primerlerle hazırlanmış ekstraksiyonlar izotermal şartlarda (65°C), yaklaşık 40 dakika uygulanmış olup, elektroforezde yürütülerek sonuçlar elde edilmiştir. Klasik PCR sonuçlarına göre, izolatların hepsinde GSβL aktivitesi tespit edilmiş olup; sırasıyla en çok CTXM-1 (%71) ve SHV1 (%71), OXA-1 (%42,8), CTXM-9 (%28,5) ve TEM (%14,2) saptanmıştır. Piyasadan toplanan kanatlı etlerinden izole edilen *E. coli*'lerin GSβL, Amp-c ve karbapenemaz genleri yönünden risk teşkil edebileceği ve bu konu ile ilgili olarak sürekli izlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimer: Antimikrobiyal direnç, *E. coli*, E-test, PCR, GSβL, Amp-c, Karbapenemaz.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ESBL, AMP-C, CARBAPENEMASE-PRODUCING *E. COLI* STRAINS ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROPERTIES ISOLATED FROM CHICKEN MEAT IN RETAIL BY MIC, PCR AND LAMP ANALYSIS

Kırıkkale University

Graduate School of Health Sciences

Department of Veterinary Microbiology, Master Thesis

Supervisor: Asst. Prof. Sibel KIZIL

January 2022, 55 pages

Antimicrobial agents used to suppress some bacterial infections during the rearing of poultry; When used intensively and unconsciously, it also creates resistance to antibiotics in poultry. In poultry, *E. coli* is present in the normal intestinal flora and causes various infections as a result of the deterioration of the flora. In this study; The antibiotic resistance properties of ES β L, Amp-c, Carbapenemase producing *E.coli* strains isolated from chicken breast meat of different brands sold in the markets were determined by disk diffusion and E test (MIC); It is aimed to determine antibiotic resistance genes by Classical PCR and Lamp PCR methods. In this context, *E. coli* strains were isolated from 7 of 100 chicken breast meat (fillets) and verified by rapid identification system (BBL Crystal). Disk diffusion test results of the isolates were evaluated according to EUCAST and CLSI, 100% to tetracycline; ampicillin, ciprofloxacin, ceftazidime 57%, chloramphenicol 71%, trimethoprim/ sulfomeamethoxazole, cefotaxime 42%; 14% resistance to gentamicin was observed. In addition all isolates (%100) were susceptible to meropenem. E-Test (MIC) test results of the isolates were evaluated according to EUCAST, CLSI ve EURL-AR and ES β L activity was found in 1 isolates and Amp-c activity was detected in 4 isolates. Carbapenemase activity was not detected in any of the isolates. Classical PCR and LAMP PCR tests were

performed after the DNAs were isolated for the detection of antibiotic resistance genes. Worked with primers suitable for classical PCR. In the LAMP PCR method, the extractions prepared with suitable primers were applied in isothermal conditions (65 °C) for approximately 40 minutes, and then the same results were obtained by conducting electrophoresis again. It has been concluded that *E. coli* isolated from poultry meat collected from the market may pose a risk in terms of ESβL, Amp-c, and carbapemase genes continuous monitoring is required in this regard.

Key Words: Antimicrobial Resistance, *E. coli*, E-test, PCR, ESβL, Amp-c, Carbapenemaz,.



TEŞEKKÜR

Çalışmamda banayön gösteren, destek ve emeklerini esirgemeyen, beni yüreklendiren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım tez danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Sibel KIZIL'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tezimde dikkat etmem gereken noktalarla ilgili bilgisinden faydalandığım hocam Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat Yıldırım'a, tez jüri komitemde yer alarak deneyimlerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Oktay KESKİN'e, labaratuvar çalışmalarımnda her zaman bana destek olan Vet. Hek. Ceren HALICI ve Vet. Hek. Aziz Utku ÖNEL'e, her zaman moralimi yükselten yanımda olan Vet. Hek. Nuray ŞAHİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Karşılıksız destekleriyle yardımcı olan Bioanalyse Firması Genel Müdürü Dr. Remzi KULEOĞLU'na ve Pharmaline Firmasından Cemal KILIÇ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Beni bugünlere getiren; eğitim hayatımda ve zor zamanlarımda hep yanımda olan, sabrını ve sevgisini esirgemeyen annem Fatma GÜVEN'e ve rahmetli babam Mustafa GÜVEN'e minnettarım.

Gülçin GÜVEN

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Derece Santgrad
Amp-C	: Ampisilin-C
CLSI	: Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory Standards Institute)
Dk	: Dakika
<i>E. coli</i>	: Escherischia coli
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Direnç Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
EURL-AR	: Avrupa Birliği Antimikrobiyal Direnç Referans Laboratuvarı
Gr	: Gram
GSßL	: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz
I	: Intermedier
L	: Litre
Mg	: Miligram
MIC	: Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (Minimum Inhibitory Concentration)
MI	: Mililitre
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
R	: Dirençli
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)
S	: Duyarlı
Sn	: Saniye
TPS	: Tamponlanmış Peptonlu Su eklenmeli
UV	: Ultraviyole
µg	: mikrogram
µl	: mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Beta laktamın kimyasal yapısı.....	10
Şekil 1.2. Karbapenemazın kimyasal yapısı.....	12
Şekil 1.3. Antimikrobiyal direnç oluşumu (CDC).....	19
Şekil 1.4. Dünya üzerinde GSβL üreten <i>E. coli</i> ve metisiline dirençli <i>S. aureus</i> görülme sıklığı.....	24
Şekil 2.1. Selektif Agar'a yapılan ekimler.....	28
Şekil 2.2. BBL Crystal'de izolatların değerlendirilmesi.....	29
Şekil 2.3. Disk diffüzyon ve E-Test.....	31
Şekil 2.4. Thermal Sycler cihazı.....	33
Şekil 3.1. Klasik PCR GSβL ampikonları ve pozitif kontrolün elektroforez sonrası bantları.....	39
Şekil 3.2. Klasik PCR B6 ve S9 izolatlarının GSβL aktivitesi.....	39
Şekil 3.3. Klasik PCR S68, S78, S42 ve S49 GSβL aktivitesi.....	40
Şekil 3.4. Klasik PCR B8 GSβL aktivitesi.....	40
Şekil 3.5. Klasik PCR S42 izolatu karbapenemaz ve Amp-C aktivitesi.....	41
Şekil 3.6. Klasik PCR S9 ve B6 izolatları karbapenemaz ve Amp-C aktivitesi.....	41
Şekil 3.7. Klasik PCR S49 izolatu karbapenemaz aktivitesi.....	42
Şekil 3.8. Klasik PCR S68 ve S78 Karbapenemaz ve Amp-C aktivitesi.....	42
Şekil 3.9. LAMP PCR'da yapılan karbapenemaz analizi.....	44
Şekil 3.10. TPS'den Klasik PCR'da yapılan GSβL analizi.....	44
Şekil 3.11. Tamponlanmış peptonlu sudan klasik PCR ile yapılan karbapenemaz ve Amp-C analizi.....	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Ambler ve Bush-Jacoby-Medeiros metoduna göre beta laktamazların gruplandırılması.....	8
Çizelge 1.2. CTX-M grupları.....	11
Çizelge 1.3. Ambler sınıflandırmasına göre karbapenemaz grupları.....	13
Çizelge 1.4. Karen Bush sınıflandırması.....	14
Çizelge 1.5. Antimikrobial direnç oluşumu ve hayvanlardan insanlara geçiş mekanizması.....	17
Çizelge 2.1. Disk diffüzyon testi değerlendirme kriterleri.....	30
Çizelge 2.2. E-Test'te (MIC) kullanılan antibiyotikler ve dirençlilik-duyarlılık değerleri.....	31
Çizelge 2.3. EURL-AR'ye göre GSβL yorumu.....	32
Çizelge 3.1. Disk diffüzyon test sonuçları.....	37
Çizelge 3.2. E-Test sonuçları.....	38
Çizelge 3.3. Klasik PCR, GSβL, Amp-C ve karbapenemaz genleri açısından izolatların değerlendirilmesi.....	43

1. GİRİŞ

Sağlıklı ve dengeli beslenme; hayvansal ve bitkisel kökenli tüm gıda maddelerinin yeterli ve dengeli miktarda tüketilmesiyle mümkün olur. Tüm dünyada ve ülkemizde tavuk eti, hayvansal gıdalar içerisinde öncelikle tercih edilen besin maddesidir. Tavuk eti, besin değeri açısından diğer et çeşitlerine göre protein değeri yüksek, yağ miktarı az ve kalorisi düşük olduğu için daha çok tercih edilmektedir (Elitok ve Bingüler, 2018).

Tüm hayvanlar büyüme ve yetiştirme aşamasında enfeksiyon etkenleriyle karşılaşmakta olup, kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde de bu durum mevcuttur. Kanatlı etinde enfeksiyon etkeni ile kontaminasyon yetiştirme döneminde oluşabileceği gibi kesim sonrasında işleme, pişirme gibi tüketime yönelik hazırlama sırasında kullanılan araç, gereç ve materyaller aracılığıyla çapraz kontaminasyonla da gerçekleşebilmektedir (Barton, Pratt ve Hert, 2003).

E. coli ise kanatlı yetiştiriciliğinde sık rastlanan enfeksiyonlardan biridir. *E. coli* enfeksiyonu ‘Kolibasillozis’ olarak adlandırılmakta olup; kanatlı hayvanların tümünde yetiştirme sürecinde ve her yaş grubunda yaygın olarak gözlenmektedir (Nolan, Barnes, Abdul-Aziz ve Louge, 2013). Kanatlı hayvanlarda *E. coli* koliseptisemi, hemorajik sepsisemi, koligranüloma, hava kesesi yangısı, koligranüloma, şişkin baş sendromu, enterit gibi çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır (Buyukcangaz, Logue, Barbieri ve Nolan, 2019). Diğer canlılarda olduğu gibi kanatlı hayvanlarda ortaya çıkan bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde de antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır. Antimikrobiyal ajanların canlılar ve tüketime yönelik üretilen hayvanlarda kullanımı, beraberinde antimikrobiyal direncin ve dirençli suşların ortaya çıkmasını tetiklemektedir (Zhao vd., 2005). Ayrıca tavuk etinde, canlıyken yetiştirme döneminde meydana gelen enfeksiyon etkenine karşı oluşan bakteriyel direnç, tüketim yoluyla insanlara da aktarılabilmektedir (Gongora, 2017). Dünya Sağlık Örgütü, antibiyotiklerin insanlar haricinde diğer canlılarda

kullanımının, insanlarda da direnç mekanizması oluşturduğunu bildirmiştir (Dünya Sağlık Örgütü, 2016). Aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı hem insanlarda hem de hayvanlarda antimikrobiyal direnci meydana getirmektedir. Antimikrobiyal direnç, hayvan ve tedaviyi üstlenen hekim açısından olumsuz sonuçlar oluşturmaktadır (Özpınar vd., 2017). Bunlardan en önemlisi ise tedavi maliyetini artırması ve tedavide başarı sağlanamamasıdır. Antimikrobiyal direnç hastada en az hastalık etkeni kadar önemli olup, yüksek mortalite ve mordibite oranına neden olmaktadır (Owens, 2008). Herhangi bir antibiyotiğe karşı direnç kazanan mikroorganizmanın, süreç içerisinde birçok antimikrobiyal ajana karşı direnç geliştirmesiyle çoklu ilaç direnci ortaya çıkmakta ve bu durum tedavi süresi ve masrafını olumsuz etkilemektedir. Birçok ülkede ise *Salmonella spp.* ve *Mycobacterium spp.* gibi etkenlere karşı oluşan çoklu dirençle mücadele söz konusudur (Rowe, Wahl ve Threlfall, 1994; Levin, Lipstich ve Perrot, 1997).

Kanatlı hayvanlarda sık rastlanan mikrobiyal enfeksiyonlardan biri *E. coli* enfeksiyonudur. Bazı *E. coli* suşlarıysa GSβL, Ampicilin-C ve karbapenemaz olmak üzere bazı enzimler üretmektedir. *E. coli* suşları tarafından üretilen GSβL, Amp-C, karbapenemaz enzimleri halk sağlığı açısından büyük bir risk oluşturmaktadır (EFSA Journal, 2011; EFSA Journal 2013). Tavuk etinde ise GSβL ve Amp-C rastlanma sıklığının yüksek olduğu belirtilmiştir (Kurittu vd., 2021). Bu tezin amacı, kanatlı etlerinden elde edilen *E. coli* izolatlarında GSβL, Amp-C ve karbapenemaz varlığını MIC, klasik PCR ve Lamp PCR metotlarıyla araştırmak ve elde edilen sonuçlara göre kullanılan metotları karşılaştırmaktır.

1.1. *E. coli* Genel Özellikleri

Escherichia cinsi içinde *E. adecarboxylata*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulnaris*, *E. blattae*, *E. albertive*, *E. coli* yer almaktadır (Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, 1984). 1885 yılında Alman Bakteriyolog Theodore Escherich tarafından *E. coli* keşfedilmiş olup *Enterobacteriaceae* ailesinden, gram negatif, sporlanmayan, flagellalı, çomak ya da basil şeklinde, kolaylıkla üreyen, glukoz, mannitol ve laktozu fermente eden bir bakteridir (Vandekerchove, 2014; Wasteson, 2001). Daha sonra 1919 yılında Dr. Escherich'e ithafen; Castelli ve

Calmer tarafından etken *Escherichia coli* olarak adlandırılmıştır (Töreci, 2002). Bu mikroorganizmayı sınıflandırmak için somatik ‘O’, flagellar ‘H’ ve kapsüler ‘K’ antijenleri alt gruplandırma yapmak için kullanılmaktadır (Zanella, 2017; Demby ve Cunningham, 1986). ‘O’ antijeni hücre zarını oluşturan, beş ya da daha fazla polisakkaritin meydana gelmesiyle ortaya çıkan lipopolisakkaritlerden oluşmuş ısıya dirençli yüzey antijenidir. 1945 yılında, Kaufmann ve Vahlne, kapsül antijenini simgeleyen ‘K antijeni’ terimini kullanmışlardır. K antijeni, bir depo polisakkarit olan N-asetil-neuramik asit yapısında olup, 60 farklı K antijeni çeşidi olduğu ifade edilmektedir (Kaufmann ve Vahlne, 1945). H antijeni ise hareket organeli ile flagellanın bir parçası olup; hareketli *E. coli* suşlarında gözlemlenebilir. Yaklaşık 56 farklı H antijeni varlığından söz edilmektedir (Bergey’s Manuel of Systematic Bacteriology, 1984). Fimbrial antijen olan ‘F antijeni’ ise daha önceleri K antijeni olarak nitelendirilmiş, protein yapısının çözülmesiyle beraber K antijeninden ayrılmış ve F antijeni olarak tanımlanmıştır. F antijeni ise suşların identifikasyonunda kullanılmaktadır (Parreira ve Gyas, 2003).

1.2. *E. coli* Patotipleri

E. coli’ler sahip oldukları virülens faktörü, oluşturdukları hastalık, hedef hücrede meydana getirdikleri değişiklikler, enterotoksin yapıları, ortaya çıkan klinik tablo, O ve H antijenik yapılarına göre Enteropatojenik *E. coli*, Enterotoksijenik *E. coli*, Enteroinvasiv *E. coli*, Enteroagregatif *E. coli*, Enterohemorajik *E. coli* ve Diffuz Adherent *E. coli* olmak üzere patotiplere ayrılır. Diffuz adherent *E. coli*’ye ait yeterli bilgi mevcut değildir. *E. coli* patotipleri ekstraintestinal veya intestinal enfeksiyonların oluşumunda etkilidir. (Carlton, John, Glenn ve Charles, 2010; Nataro ve Kaper, 1998; Öngen, 2008).

1.2.1. İntestinal Patotipler

1.2.1.1. Enteropatojenik *E. coli*

İlk tanımlanan patotiptir. Diyareyle ilişkili olup ısıya dayanıklı veya duyarlı çok sayıda enterotoksin oluşturmaktadır. Bu suşlar ince bağırsakta mikrovilluslara tutunup, sentezledikleri enterotoksinlerle enterositlerin aktivitesini engelleyerek

kuzu, buzağı, domuz yavrularında ve bebeklerde diyareye neden olmaktadır (Padhye ve Doyle, 1992; Willke 2008).

Önceleri Enteropatojenik *E. coli* suşları, O ve H antijenine bağlı olarak identifiye edilirken, artık “Locus of Entrocyt Effacement” olarak anılan patojen varlığı ve shiga toksin genlerinin bulunmamasına dayanılarak netleştirilmektedir (Vanessa ve Karlyn; 2015).

1.2.1.2. Enterotoksijenik *E. coli*

İlk kez domuz yavrularında görülen ishallerden izole edilmiştir. Patogenezinde enterotoksinler, yapışmayı sağlayan fimbrialar ile afimbrial adhezinler ön plandadır (Nataro ve Kaper, 1998). Bu patotip bağırsak mukozasına kolonizasyon faktör antijenleri yani adhezinler sayesinde bağlanır (Nataro ve Kaper, 1998; Wilke 2008). Enterotoksijenik *E. coli* suşları termolabil veya termostabil olmak üzere farklı iki toksin grubundan birini salgılamaktadır (Nataro, Kaper, Robins, Prado ve Levin, 1987).

1.2.1.3. Enteroinvaziv *E. coli*

Bu etken genelde hareketsizdir ve invaze olarak ishal veya dizanterinin ortaya çıkmasında etkili olur. İnvaze olduktan sonra fagozomdan kaçarak hücre sitoplazmasında aktin kamçıları ile hareket ederek komşu hücreye ulaşır ve hücre içine girer (Wilke, 2008). Plasmid taşımakta olup, kanlı ishal tablosunun ortaya çıkmasında etkilidir (Nataro ve Kaper, 1998). Patojeniteleri, fagositoza ve kapsülleri aracılığıyla komplement sisteminden kaçabiliyor olmalarıyla ilgilidir. Enteroinvaziv *E. coli*, *Shigella spp.* ile benzerlik göstermektedir (Brenner, Fanning, Miklos ve Steigerwalt, 1973).

1.2.1.4. Diffuz Adherent *E. coli*

Diyareye neden olmakla birlikte, Human Epitelial Tip-2 hücrelerine diffuz olarak yapışmaktadır (Nataro ve Kaper, 1998). Çocuklarda sık rastlanmakta olup, Human Epitelial Tip-2 adheziv varlığı nedeniyle mikrokoloni oluşturmamaktadır (Dho ve Lafont, 1984). Bu tipte adhezin geni ve intimin varlığı ortaya konulmuştur (Halkman, Noveir ve Doğan 2001; İzgür 2002).

1.2.1.5. Enteroagregatif *E. coli*

İlk olarak hayvanlarda tespit edilmiş olup, tropikal bölgede yaşayan çocuklarda sık rastlanmaktadır (Halkman, Noveir ve Doğan 2001). AIDS’le bağlantılı olup; AIDS’te kronik ve yolcu ishalinin ortaya çıkmasında etkilidir (Huang, Mohanty, Dupont, Okhuysen ve Chiang, 2006). Yapılan araştırmalar sonucunda, iki sınıfa ayrılmış olup; etkenin agregatif veya diffuz yapışma gerçekleştirebildiği ortaya konulmuştur (Nataro, Kaper, Robins, Prado ve Levin, 1987).

Enfeksiyon oluşturma şeklinin, etkenin kolon mukozasına agregasyonla yapışması ve bunu takiben villus kaybı ve hücre ölümüne sebep olması şeklinde olduğu tahmin edilmektedir (Willke, 2008; Nataro ve Kaper, 1998). Patogenezi ise agregatif adherens fimbriya ile etkenin hücreye tutunması, mukus ve toksin üretimi ve yangının oluşmasıyla beraber, mukozaların zarar görmesiyle bağırsaklarda sekresyonun oluşması şeklinde açıklanmaktadır (Arslan, 2008). Etken kimi zaman sitotoksin salgılayabilmekte ve bu toksine enteroagegatif sitotoksin adı verilmektedir. Söz konusu toksin bir plasmid tarafından kodlanmaktadır. Bu toksin bağırsak kriptlerinde dilatasyon, hücrelerde kopma veya şekil değişikliğine sebep olmaktadır (Willke, 2008; Huang, Mohanty, Dupont, Okhuysen ve Chiang, 2006).

1.2.1.6. Enterohemorajik *E. coli* (Vero/Shiga Toksin Üreten *E. coli*)

Shiga toksini üreten *E. coli*, ilk kez 1977 yılında keşfedilmiştir. Shiga toksin üreten *E. coli*’ye sadece domuzlarda rastlanırken; diğer hayvanlar üzerine olan etkisi netleşmemiştir. *Shigella dysenteriae* tarafından üretilen sitotoksin olan Shiga toksine benzer salgısı nedeniyle shiga toksin üreten *E. coli* denilmektedir (CDC, 2015). Yapışmanın oluşmasında, plasmid aracılığıyla kodlanan faktörler ve adhezin virülens faktörleri etkilidir.

E. coli O157: H7 serotipi, insanda Hemorajik Üremik Sendrom, Trombotik Trombositopenik Purpura ve Hemorajik Kolitis’e neden olmaktadır (Willke, 2008). Zoonotik bir patojendir (Caprioli, Morabito, Brugere ve Oswald, 2005).

1.2.2. Ekstraintestinal *E. coli* Patotipleri

1.2.2.1. Septisemik *E. coli*

Septisemiden sorumlu olup, invazyonun ilk adımı bağırsak epiteline adhezyondur. Adhezyon, yani tutunmayı, fimbrial adhezinler gerçekleştirir. Septisemik tüm suşlar Colisin V'yi kodlayan bir COL V plazmidi taşımakta olup, aynı zamanda tip IV pilusunuda ifade etmektedir. Bu pilus *Salmonella Typhi*'de oldukça önem taşımaktadır. COL V plazmidi, bu gruptaki *E. coli* suşlarının, canlı kalması açısından oldukça önemlidir (Moulin-Schouleur vd., 2007)

1.2.2.2. Üropatojenik *E. coli*

Köpek, kedi ve insanlarda idrar yolları enfeksiyonuna neden olmaktadır. Köpeklerde daha sık gözlenmektedir (Vanessa ve Carly, 2015). Virulens genlerinin çoğunluğu büyük multigenik kromozomal segment taşımaktadır (Jann K ve Jann BJ, 1977). Virülens faktörleri adhezin, hemolizin, aerobaktin ve sitotoksik nekrotizan faktördür (Omerovic, Müştak ve Kaya, 2017).

1.2.2.3. Avian Patojenik *E. coli*

Kanatlı havanlarda çoğunlukla ölümle sonuçlanan koliseptisemiye neden olan bir patojendir. Broylerde selülitide gözlenebilir ve ciddi ekonomik kayıpları beraberinde getirir. Virülens faktörleri adhezin, sıcaklığa duyarlı hemaglütinin, kolisin, demir kazanım sistemi, serum direnci ve toksinlerdir. Üropatojenik *E. coli* ve “newborn meningitis-causing *E. coli*”nin sebep olduğu yeni doğan meningitis hastalığında, Avian patojenik *E. coli* suşlarının potansiyel zoonotik etken olabileceğini belirtilmiştir (Omerovic, Müştak ve Kaya, 2017; Nagy ve Fekete, 2005).

1.3. Antibiyotikler

Patojen mikroorganizmaların (bakteri, virüs, mantar vd.) neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ajanlara antimikrobiyal ajan adı verilmektedir. Diğer bakterilerin çoğalmasını engelleyen bakteriyostatik veya onların ölümüne

neden olan bakterisidal etki gösteren doğal maddelere de antibiyotik adı verilmektedir (Saran ve Karahan, 2010).

Antibiyotikler genel olarak makrolid, tetrasiklin, aminoglikozid, glikopeptid, sülfonamid, kinolon, okzasolidinon ve beta laktamlar olmak üzere sınıflandırılabilir. Bu çalışmanın asıl araştırma konusu, beta laktamlar ve alt gruplarına dahil olan Amp-C ve karbapenemaza karşı mevcut olan bakteriyel dirençtir.

1.4. Geniş Spektrumlu Beta Laktam, Amp-C ve Karbapenemaz

Beta laktamazlar; beta laktam antibiyotiklere karşı mikroorganizma tarafından üretilen enzimlerdir (Yavuz, 2011). Beta laktamazlar; Bush-Jacoby-Mederios'un fonksiyonel sınıflandırması ve Ambler'in moleküler sınıflandırılması olarak 2 farklı şekilde sınıflandırılır.

1.4.1. Bush-Mederios-Jacoby Sınıflandırması

Bush-Mederios-Jacoby tarafından yapılan sınıflandırma, enzimin etki ettiği yüzey, bir başka deyişle substrat-inhibitör yapısı ve fonksiyon benzerliklerine göre 4 ana gruba ve bu gruplarda alt gruplara ayrılmıştır (Görgeç, 2012).

1.4.1.1. Grup 1

Kromozomal beta laktamazlardır. **Amp-C** enzimleri ve plasmid kontrolündeki (FOX-1, CMY-1, vb.) beta-laktamazlar bu grupta yer almaktadır (Bush, Jacoby ve Medeiros, 1995). Karbapenemlere karşı duyarlıdır. Moleküler grup C'de yer almaktadır (Yavuz, 2011).

1.4.1.2. Grup 2

Kendi içinde alt sınıflara ayrılmıştır. Moleküler olarak değerlendirildiğinde A sınıfını temsil etmektedir. Grup 2b; penisilin ve ayrıca sefalosporinleri de hidrolize eden enzimler bu gruptadır. Moleküler sınıf A'da yer alırlar. Plasmid kontrolündeki, TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-laktamaz genleri bu grupta yer almaktadır. Grup 2be; TEM ve SHV türevi enzimlerden oluşur. GSBL üzerinde etkilidirler. Klavulonik asit gibi beta-laktamaz baskılayıcılarına duyarlıdırlar. Grup 2br; klavulonik aside dirençli GSBL'ler bu gruptadır. Moleküler sınıf A'da yer almakta olup plazmid kökenlidirler.

Grup 2c; karbenisilini hidrolize eden enzimler bu gruptadır. Moleküler sınıf A'da yer alırlar. Klavulonik aside duyarlıdırlar. Grup 2d'de ise oksasilini hidrolize eden enzimler mevcuttur. Moleküler sınıf D'de yer alırlar. Klavulonik asit ve sulbaktama dirençlidirler. Plasmid kontrolünde sentezlenirler. Grup 2e ise sefalosporinleri inhibe etmektedir. Moleküler gruplandırma A grubunda yer almaktadır. Grup 2f; karbapenemleri hidrolize ederler. Moleküler sınıf A'da yer alırlar. Klavulonik aside duyarlıdırlar.

1.4.1.3. Grup 3

Metalo beta laktamazlar adını almakta olup klavulonik asitten etkilenmezler. Moleküler sınıf olarak bakıldığında B grubunda yer almaktadır. EDTA ile aktifliğini kaybederler.

1.4.1.4. Grup 4

Klavulonik asit ve diğer beta-laktamaz inhibitörleriyle inhibe olmayan penisilinaz grubundan oluşur. Yapıları henüz tam olarak saptanamadığı için molekül sınıfı belirlenememiştir (Yavuz, 2011).

Çizelge1.1. Ambler ve Bush-Jacoby-Medeiros metoduna göre beta laktamazların gruplandırılması
(Kamburoğlu, 2011)

Bush-Medeiros-Jacoby Sistemi	Önemli Alt Grupları	Ambler Sistemi	Belli Başlı Özellikleri
Grup1 sefalosporinazlar		C (sefalosporinazlar)	Genellikle kromozomal; karbapenemler dışında tüm β -laktamlara direnç; klavulanat ile inhibisyon yok
Grup2 penisilinazlar (klavulanik aside duyarlı)	2a	A (serin β -laktamazlar)	Stafilokok penisilinazları
	2b	A	Geniş spektrumlu TEM-1, TEM-2, SHV-1
	2be	A	Genişlemiş spektrumlu: çoğunlukla TEM ve SHV çeşitleri
	2br	A	Karbenisilini hidrolize edenler
	2c	A	Karbenisilini hidrolize edenler
	2e	A	Klavulanat ile inhibe olan sefalosporinazlar
	2f	A	Klavulanat ile inhibe olan karbapenemazlar
	2d	D (oksasilin hidrolizi)	Oksasilini hidroliz edenler (OXA)
Grup3 metallo β -laktamazlar (MBL)	3a	B (metalloenzimler)	Çinko bağımlı karbapenemazlar
	3b	B	
	3c	B	
Grup4 β -laktamazlar		Sınıflanmamış	Birçoğu dizi analizi yapılmamış, çeşitli enzimler

1.4.2. Ambler Sınıflandırması

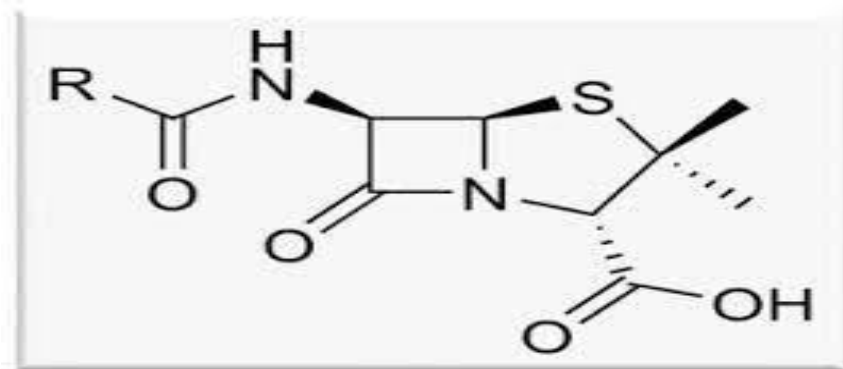
Beta laktamazlara yönelik bir diğer sınıflandırma ise Çizelge 1.1’de görüldüğü gibi Ambler Sınıflandırması olup Grup A, Grup B, Grup C ve Grup D olmak üzere dört ayrı alt gruptan oluşmaktadır.

1.4.2.1. Grup A

Ambler tarafından beta laktamazların molekül yapısında bulunan aminoasit ve nükleotid dizilimi benzerliği dikkate alınmış ve penisilinleri hidrolize edebilen grup olarak nitelendirilmiştir. TEM-1 bu grup için verilebilecek bir örnektir. Penisilin-sefalosporinazlar, GSβL ve karbapenemazları içermektedir.

- **Geniş Spektrumlu Beta Laktamazlar**

E. coli tarafından ve diğer gram negatif bakteriler tarafından üretilen beta laktamaz enzimi; plasmidler ya da transpozonlar sayesinde sentezlenerek beta laktam antibiyotiklerdeki amid bağlarını parçalayabilen enzimlere GSβL adı verilir (Livermore, 1997; Sanders, Thomson ve Bradform, 1993). Ayrıca 200’den fazla GSβL enzimi bulunmaktadır (Paterson ve Bonomo, 2005). GSβL; penisilinleri, geniş spektrumlu sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize edebilen beta laktamazlar olarak tanımlanır ve klavulanik asit tarafından inhibe edilir. Bu özellikler, GSβL’leri, geniş spektrumlu sefalosporine dirençli Gram negatif bakterilerden izole edilen başka bir enzim grubu olan Amp-C tipi β-laktamazlardan ayırır (Rupp & Fey, 2003).



Şekil 1.1. Beta laktamın kimyasal yapısı (Yalçın, 2018)

GSβL genleri çoğunlukla plasmidlerle ilişkilidir ve bu özelliği sayesinde diğer bakterilere de genleri aktarabilirler. Bu sebepten dolayı antimikrobiyal direnç yayılabilir ve bunun için taşıyıcı bakterinin patojenik olması gerekliliği yoktur.

GSβL enzimi genlerinden en bilinenleri TEM, SHV, CTX-M şeklindedir (Paterson ve Bonomo, 2005; Cantón ve Coque, 2006). GSβL genleri bakteri çeşitleri arasında ve bakteri içinde aktarım yapabilen plasmidler içinde yer alır (Overdevest vd., 2011). Başka bir grup araştırmacı ise GSβL enzimi genleri olarak TEM, SHV, CTX-M yanı sıra; TEM genini de eklemiş ve Ambler grubu A (Çizelge 1.1) sınıfına dahil etmiştir (Bush ve Jacoby, 2010). Önceleri daha sık rastlanan gen çeşidi TEM iken, günümüzde yerini CTX-M genine bırakmıştır. Belirtilen başka GSβL genleri ise GES, VEB, PER şeklindedir (Paterson ve Bonomo, 2005). GSβL enzimleri birçok antimikrobiyal ajanın parçalanmasına yol açarak bu ilaçları etkisiz hale getirir ve karbapenem kullanımı gereklidir (CDC, 2021).

CTX-M: GSβL genlerinden CTX-M, sefotaksimi yüksek oranda lize eder ve bu nedenle Cefotaksimase-Munih, yani CTX-M şeklinde adlandırılırlar (Düzgün ve Saral, 2018). Diğer GSβL genlerinden farklı olarak CTX-M sıklıkla *E. coli* tarafından taşınmaktadır (Qi, Pilla, Yu, ve Reed, 2010). CTX-M beta laktamazları bulunduran *E. coli* izolatları genellikle aminopenisilinlere (ampisilin ve amoksisilin), karboksi penisilinlere (karbenisilin veya tikarsilin), üreidopenisilinlere (piperasilin) ve dar spektrumlu sefalosporinlere (sefaloridin, sefalotin ve sefuroksim) yüksek düzeyde dirençlidir. Türkiye’de en yaygın GSβL geninin CTX-M olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Düzgün ve Saral, 2018). CTX-M üreten *E. coli*’nin çoklu ilaç direncine sebep olması nedeniyle, antimikrobiyal direnç ve enfeksiyonların kontrolünde dikkat edilmesi gereken bir konudur (Mathers, Peirano ve Pitoutb, 2015).

CTX-M beta laktamaz ailesinin 50’den fazla çeşidi olup; CTX-M-1 grubu, CTX-M-2 grubu, CTX-M-8 grubu, CTX-M-9 grubu ve CTX-25 grubu dahil olmak üzere 5 gruba ayrılır (Qi, Pilla, Yu, & Reed, 2010).

Çizelge 1.2. CTX-M grupları (Görgeç, 2012)

Grup 1 (CTX-M-1)	CTX-M-1, -3, -10, -12, -15
Grup 2 (CTX-M-2)	CTX-M-2, -4, -4L, -5, -6, -7, -20
Grup 3 (CTX-M-8)	CTX-M-8
Grup 4 (CTX-M-9)	CTX-M-9, -13, -14, -16, -17, -19, -21, -27
Grup 5 (CTX-M-25)	CTX-M-25, -26

CTX-M-1 ve CTX-M-2 gruplarının enzimlerini kodlayan genlerin ilk olarak, *Kluyvera ascorbata* suşlarında tespit edilmiştir. CTX-M-8 ve CTX-M-9 grubunun enzimlerini kodlayan genlerin öncüleri *Kluyvera georgiana* suşlarında bulunmaktadır (Qi, Pilla, Yu ve Reed, 2010).

TEM: TEM-1 geni ilk olarak Temoneriae isimli hastadan izole edildiği için, kişiye ithafen, TEM olarak anılmaktadır. Başta *E. coli* olmak üzere *Enterobacteriaceae* familyasında bulunan bakterilerde gözlemektedir (Görgeç, 2012). Ampisilin, penisilin ve sefalotin gibi birinci nesil sefolosporinlere karşı direnç taşımaktadır (Rupp ve Fey, 2003). *E. coli* 'nin ampisiline olan direnci, genelde TEM-1'den köken almaktadır (Görgeç, 2012). Tanımlanan ilk varyant olan TEM-2, 39. pozisyonda glutamin yerine, lizin geldiği için TEM-1'den farklıdır. Bununla birlikte, substrat profiliyani etki ettiği yüzey, TEM-1 ile aynı olduğundan, TEM-2 bir GSβL olarak kabul edilmez (Rupp ve Fey, 2003).

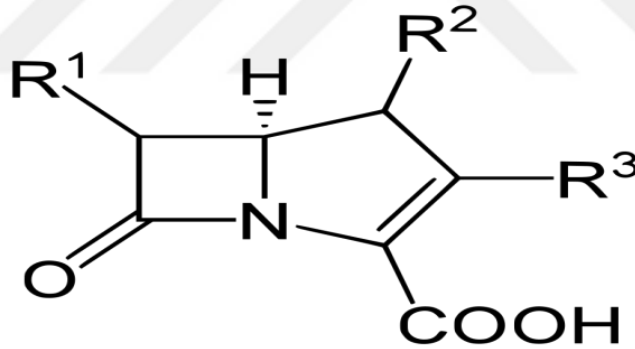
SHV: Açılımı Sulhidril Variant'tır. Kromozomal veya plasmidlerle kodlanır. TEM-1'e göre daha az varyantı vardır. Monobaktam ve sefolosporinleri yapısında mevcut olan bla_{SHV-1} yapısında meydana gelen mutasyonlardan kanaklı olduğu düşünülmektedir (Rupp ve Fey, 2003).

- **Karbapenemazlar**

Karbapenemler, 1990'lı yıllarda ortaya çıkarılmış olup, *Enterobacteriaceae* ve diğer bakteri grubundaki etkenleri de içine almış ve tüm dünyada bir risk faktörü olarak değerlendirilmiştir (Paterson ve Doi, 2007). Karbapenemler, gram negatif etkenlerde rastlanan (Ör: *E. coli*) GSβL'lere karşı etki eden ve bu etkenlerden kaynaklı olarak ortaya çıkan enfeksiyonlara karşı kullanılan bir antimikrobiyal ajan çeşitidir. Karbapenemler, beta laktam sınıfının bir üyesidir (Başaran ve Korten,

2010). Son yıllarda ise GSβL ve Amp-C üreten bakteri kaynaklı enfeksiyonlara karşı kullanılmakta ve direnç gelişimini de beraberinde getirmektedir. Karbapenemler, GSβL üreten, özellikle çoklu ilaç direnci gözlemlenen *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan türlerde diğer seçenekler denendikten sonra iyileşme gözlenmemişse kullanılabilecek güçlü bir antibiyotik grubudur (Nordmann, Naas ve Poirel,2011).

Karbapenemaz olarak söz edilen karbapenemi lize eden enzimler; karbapenem grubu antibiyotiklere karşı bakteri tarafından üretilmekte olup, söz konusu antibiyotiklere karşı oluşabilecek herhangi bir dirençlilikten de sorumludur (Karaaslan ve Soysal, 2017). Bir başka deyişle; karbapenemazlar; en geniş spektrumlu bakteriyel etkinliğe sahip beta laktam sınıfı üyelerden olan karbapenemlerden birini (imipenem veya meropenem) hidrolize eden beta laktamaz olarak da bilinmektedir. Üretmiş oldukları enzim ise sadece karbapenemlere değil diğer beta laktamlara karşı da son derece etkilidir (Rasmussen ve Bush, 1997).



Şekil 1.2. Karbapenemazın kimyasal yapısı (Wikipedia, 2021)

Karbapenemazlar ‘Ambler Moleküler Sınıflandırmasına’ göre dört ayrı grupta incelenmektedir. Bu gruplar A, B, C, D gruplarıdır (Bush, 1998).

Çizelge 1.3. Ambler sınıflandırmasına göre karbapenemaz grupları (Karaaslan ve Soysal, 2017)

	Karbapenemaz Genleri	En sık bulunduğu etken	Gen yerleşimi
A sınıfı Karbapenemaz	SME-1, SME-2, SME-3	<i>S. marcescens</i>	Kromozom kökenli
	IMI-1, IMI-2	<i>E. cloacae</i>	Kromozom kökenli
	NMC	<i>E. cloacae</i>	Kromozom kökenli
	KPC-1, KPC-2, KPC3, KPC-4	<i>K.pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. freundii</i>	Plasmid
	GES 2,4,5,6	<i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i>	Plasmid
B sınıfı Karbapenemaz	IMP (Imipenemases)	<i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	Plasmid
	VIM (Verona integro metalo- β -lactamase)	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	Plasmid
	SPM-1 (Sao Paulo metalo- β -lactamases)	<i>P. aeruginosa</i>	Plasmid
	GIM (German imipenemase)	<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>E. cloacae</i>	Plasmid
	SIM-1 (Seoul imipenemase)	<i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>	Plasmid
	NDM (New Delhi metalo- β -lactamase)	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>A. baumannii</i>	Plasmid
D sınıfı Karbapenemaz (en sık görülenler)	OXA-51	<i>A. baumannii</i>	Kromozom kökenli
	OXA-23,OXA-24/OXA40, OXA-48, OXA-58	<i>A. baumannii</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	Plasmid

A, B grubu karbapenemazlar, aktiviteleri için etkin bölümlerinde serin aminoasiti içerirken, D grubu karbapenemazlar çinko içerir ve etkinliğini bu maddelere bağlı olarak ortaya koyarlar. Bu nedenle Metallo Beta Laktamaz adını alırlar (Bush K, 1998).

A grubu karbapenemazlar; kromozomal kökenli *Serratia marcescens* enzimi, non-metalloenzim karbapenemaz, imipenem yıkıcı, hidrolize edici beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır (Walther-Rasmussen ve Høiby, 2006). KPC ve GES enzimleri plasmidle kodlanırken, diğer enzimler kromozomal kökenlidir (Diene ve Rolain, 2014).

B grubu karbapenemazlar, doğal olarak üretilen metalo beta laktamazlar ve bir türden başka bir türe plasmidler vasıtasıyla aktarılabilen enzimleri içerir. Bunlar IMP, VIM, GIM, SIM ve NDM-1 enzimleri şeklindedir.

D grubu karbapenemazlar ise oksasilini lize edebilirler. Bu nedenle OXA tip enzim olarak da anılırlar. Kromozomal kökenli olan OXA-51; plasmidler aracılığıyla taşınabilenler ise OXA-23, OXA24/40, OXA-48, OXA-58 şeklindedir (Walther-Rasmussen ve Høiby, 2006).

Enterobacteriaceae familyasına dahil olan *E. coli* için, Ambler sınıflandırmasına göre A grubu karbapenemaz enzimlerinden KPC ve GES sınıfı; B grubu genlerinden VIM ve NDM sınıfı; D grubu enzimlerinden ise OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-58 kullanımı uygundur (Karaaslan ve Soysal, 2017).

Bu gruplandırmanın yanında karbapenemazlar hedef metaryalin yıkımı ve engellenmesi özelliklerine göre de gruplandırılır. Bu gruplandırma 2f, 2d, 3 olarak adlandırılmıştır. Karen Bush gruplandırması adını alır (Rasmussen ve Bush, 1997).

Çizelge 1.4. Karen Bush sınıflandırması (Karaaslan ve Soysal, 2017)

Moleküler Sınıf	İşlevsel Küme	Enzim adı	Hedef Yıkımı Özelliği					Engellenme özelliği	
			Penisilin	1.SS	GSS	Azitroneam	Karbapenem	EDTA	Klavulanik asit
A	2f	NMC	+	+	+	+	+	-	+
		SME	+	+	±	+	+	-	+
		KPC	+	+	+	+	+	-	+
		IMI	+	+	+	+	+	-	+
		GES	+	+	+	-	±	-	+
B1	3	IMP	+	+	+	-	+	+	-
		SPM	+	+	+	-	+	+	-
		GIM	+	+	+	-	+	+	-
		VIM	+	+	+	-	+	+	-
D	2d	OXA	+	+	±	-	±	-	±

SS: Birinci kuşak sefalosporin, GSS: Geniş spektrumlu sefalosporinler.

Karen Bush sınıflandırması incelendiğinde ise *E. coli* için VIM, IMP, KPC, GIM, SPM, IMI, NMC ve SME genlerinin kullanımı uygun olup; OXA ve GES geni de mevcut duruma göre değerlendirilmelidir (Rasmussen ve Bush, 1997).

1.4.2.2. Grup B

Penisilinleri, sefalosporinleri ve karbapenemleri hidrolize ederler; fakat monobaktamları hidrolize edemeyen ve Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 3a alt grubuna denk gelen B1 alt sınıfıdır. 3 adet alt sınıfı vardır (Pehlivanoğlu, 2019).

1.4.2.3. Grup C

Bu sınıftaki enzimler, **Amp-C beta-laktamazlar** olarak da bilinirler. Çoğunlukla kromozomlarda bulunan genler tarafından kodlanmalarına rağmen, plasmidlerde bulunan Amp-C beta-laktamaz genleri de vardır. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırmasında, Grup 1’de yer alırlar (Pehlivanoğlu, 2019).

- **Amp-C**

Bush-Mederios-Jcoby sınıflandırmasında Grup 1’de yer almaktadır. Amp-C beta laktamazlar, *E. coli* gibi birçok *Enterobacteriaceae*’nın kromozomlarında kodlu olan bir sefalosporinazdır. Aynı zamanda sefazolin, sefoksitin, sefalotin ve beta laktamları baskılayan; beta laktam-beta laktamaz baskılayıcı kombinasyonlara ve birçok penisilin türevine karşı direnç gösterir (Jacoby, 2020). Amp-C beta laktamazlar, Ambler sınıflandırmasına göre C grubunda yer almaktadır. A, C, D grupları gibi olmayıp; bir beta laktam grubu olan sefoksitine karşı aktiftir. Ancak A sınıfı enzimleri için, inhibitör etkisi gösteren klavulanik asit tarafından pasifize edilemezler (Bush ve Jakoby, 2010; Njage ve Buys 2015). Amp-C kromozomal ve plazmid kökenli olup; plasmid kökenli olan grup indüklenebilme özelliği göstermez (Mezzatesta, Gona ve Stefani, 2012). Plasmidlerde bulunan Amp-C, beta-laktamaz genleri ise temel olarak 6 familyaya ayrılmış olup: ACC, CIT, DHA, EBC, FOX ve MOX olarak kodlanmışlardır (Pehlivanoğlu, 2019).

Plasmid kökenli Amp-C tipi beta laktamazlar, özellikle GSβL’ler ile birlikte ortaya çıkmaktadır (Fadare, Adefisoye ve Okoh, 2020; Thomson, 2010).

1.4.2.4. Grup D

OXA Tip Beta Laktamazlar olarak adlandırılabilirler. Kromozomal olarak görev yapan tipler OXA-51 olup, plasmidler aracılığıyla işlevini yerine getirenler ise

OXA-23, OXA-24/OXA40, OXA-48 ve OXA-58 şeklinde sıralanabilir (Walther-Rasmussen ve Høiby, 2006). Klavulanik asitle inhibe olmazlar. Oksasilini hidrolize ederler. Sefalotin ve ampisiline karşı dirençlidirler (Kamburoğlu, 2011).

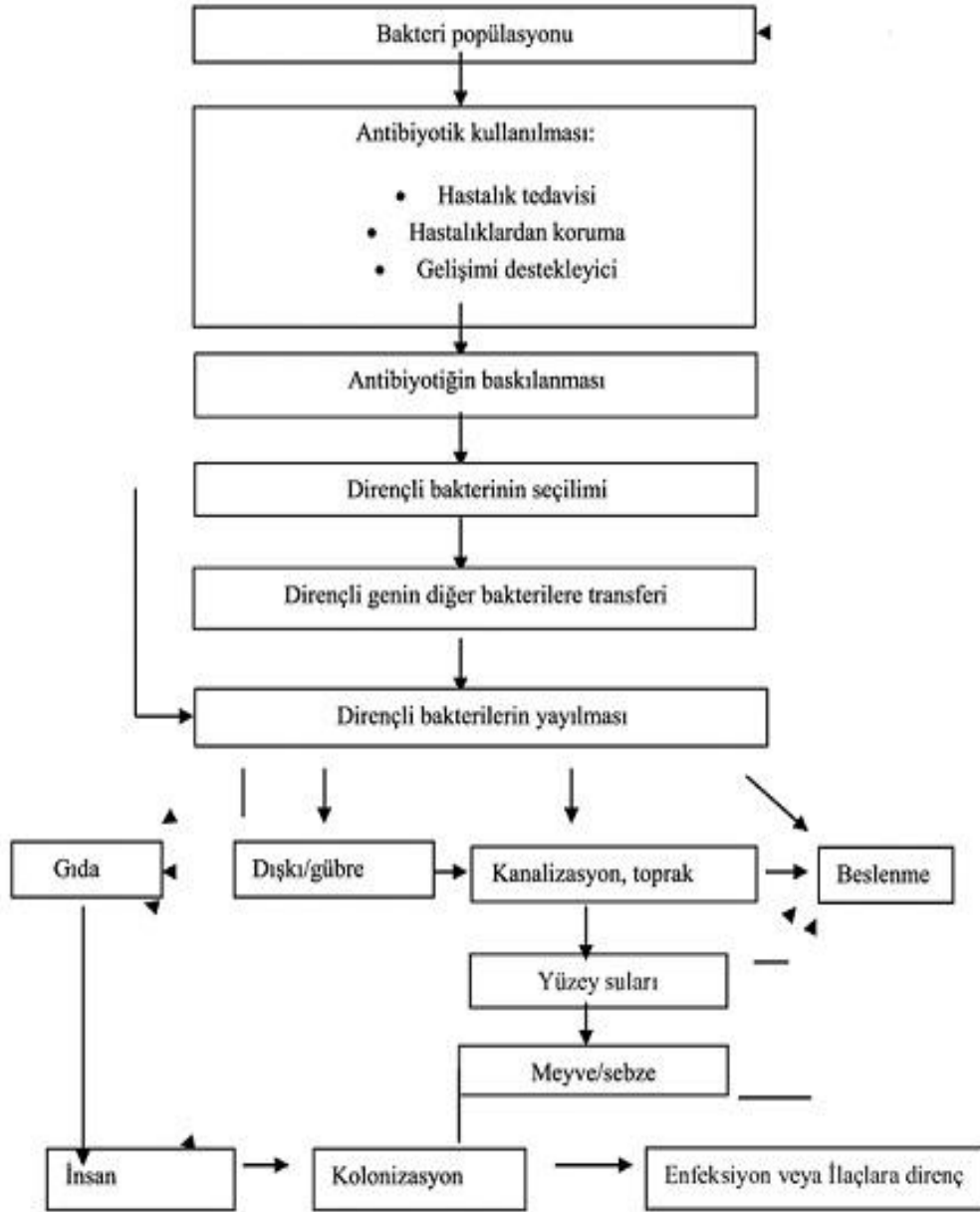
1.5. Antimikrobiyal Direnç

Direnç; bir bakterinin antibiyotik veya bir antimikrobiyal etkenin, öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyup bu maddelerden etkilenmemesi anlamına gelmektedir. Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi, büyük ölçüde fazla ve bilinçsiz antibiyotik kullanımıyla ortaya çıkmaktadır. Ancak 1940'lı yıllarda, antibiyotiğin kullanılmadığı yerlerde, bazı antibiyotiklere karşı dirençli bakteriler tespit edilmiştir. Bu durum bize, dirençlilik oluşumunda sadece fazla miktarda antibiyotik kullanımının rol almadığını göstermektedir. Buradaki direncin nedeni ise, bakterinin olumsuz çevre şartlarında, bir savunma mekanizması olarak direnç oluşturmalarıdır. Ayrıca antibiyotik direnci gün geçtikçe gelişmekte ve çoklu ilaç direncine yerini bırakmaktadır (Teenover ve Hugles, 1996; Gold ve Moellering, 1996).

1.5.1. Doğal Direnç

Bakteriler sahip oldukları genetik veya tür özelliklerinden dolayı bazı antibiyotiklere karşı dirençli olabilirler. Bu direnç türü; antibiyotik ajanın bakterinin etkinliğini ortadan kaldırmak için etki edeceği yapıyı bakterinin taşıyıp taşımadığı veya antibiyotiğin sahip olduğu bir özellikten dolayı, bakteri üzerinde hedeflenen etkiyi gösterememesi sonucu ortaya çıkar (Jawetz, Melnick ve Adelberg, 1995; Eliopoulos, 1992).

Çizelge 1.5. Antimikrobiyal direnç oluşumu ve hayvanlardan insanlara geçiş mekanizması
(Khachatourians'dan modifiye edilmiştir, 1998; Anonym, 2004; Korhonen 2010)



1.5.2. Kazanılmış Direnç

Bakterinin sahip olduğu genetik özelliklerde geri dönüşümsüz değişimler (mutasyon vb.) meydana gelirse, bakteri daha önceden duyarlı olduğu antimikrobiyal etkene karşı direnç kazanıp antimikrobiyal ajandan etkilenmez. Kromozom veya kromozom harici organellerde meydana gelebilir (Yüce, 2001).

1.5.2.1. Kromozomal Direnç

Bakteri kromozomunda oluşan mutasyonlara bağlı gerçekleşir. Bu mutasyonlar bakteri yapısında meydana gelen kalıcı değişikliklerdir. Kimyasal, sıcaklık veya fiziksel değişimler sonucu ortaya çıkabilir. Bunun sonucunda bakteri veya mikroorganizma hücresinin antimikrobiyal ajana karşı permeabilitesi azalır. İlaç hücre içinde istenen bölgeyi etkisi altına alamaz. Streptomisin, aminoglikozid, eritromisine karşı oluşan direnç bu başlığa örnek verilebilir. Ancak bu tipteki direnç az gözlemlenir (Jawetz, Melnick ve Adelberg, 1995).

1.5.2.2. Ekstrakromozomal Direnç

Çeşitli yollarla aktarılan plasmid, transpozon, integron adı verilen elemanlarla gerçekleşir.

- **Plasmidler:**

Bakterilerde varolan kromozomdan bağımsız görev yapan DNA birimleridir. “R” ile simgelenen “Rezistans Faktörleri” bulunur. Bu faktör sayesinde antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirebilirler. İlaçların etkisini inhibe eden enzim üretirler (Yüce, 2001).

- **Transpozonlar:**

Sıçrayan genler olarak da tabir edilmektedir. Plasmitten plasmide, plasmitten DNA'ya veya bakteriyofaja, kromozomdan plasmide geçiş yapabilen sadece kendi başına replikasyon özelliği olmayan DNA dizileridir. Bakteride direnç genlerini taşıyan genetik yapı ve plasmidler bir bakteriden diğerine konjugasyon, transdüksiyon, transformasyon ve transpozisyon olaylarından biriyle aktarılır. Kromozom veya plasmid üzerindeki direnç genleri bakteri bölünmesiyle yavru hücrelere geçer. İki bakterinin temas etmesiyle genetik materyalin birinden diğerine geçişi konjugasyon olarak tanımlanır. Konjugasyon yoluyla plasmid aktarımında gözlemlenebilir. Transpozon adı verilen kısa DNA parçalarının aktarılmasına da transpozisyon adı verilmektedir. Son zamanlarda direnç genleri çoğunlukla transpozonlar vasıtasıyla taşınmaktadır. Transformasyonda ise; ortamda serbest halde bulunan DNA'nın, bakteri hücresi içine alınmasıyla gerçekleşir. Bu yolla da direnç genleri aktarılmış olur. Direnç genlerinin bakteriyofajlar aracılığıyla aktarılmasına

transdüksiyon adı verilmiş olup, genel itibariyle laboratuvar ortamında gerçekleşmektedir. Direnç genleri genel olarak kromozom veya plasmid üzerine konumlanmıştır ve birbiriyle bağlantılı olduğu noktalar vardır. Bu bağlantı noktalarına özel integrasyon birimi bulunur ve birimler integron olarak isimlendirilir. Rekombinasyonda büyük önem taşımaktadır (Jawetz, Melnick ve Adelberg, 1995; Eliopoulos, 1992).

1.5.2.3. Çapraz Direnç

Mikroorganizmalar genetik yapısı itibariyle bazı antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlilik gösterebilmektedir. Buradan yola çıkarak bakteriler bir antibiyotiğe karşı dirençlilik sergiliyorsa; aynı mekanizma ile etki gösteren bir başka antibiyotiğe karşı da direnç gösterebilir (Jawetz, Melnick ve Adelberg, 1995; Eliopoulos, 1992).



Şekil 1.3. Antimikrobiyal direnç oluşumu (CDC, 2021)

1.6. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Günümüzde çok çeşitli antimikrobiyal direnç mekanizmaları bulunmaktadır. Her mikroorganizmanın sahip olduğu direnç mekanizması farklı olabileceği gibi; her antibakteriyel ajanda birçok farklı mekanizmayı kullanarak direnç geliştirebilmektedir.

1.6.1. Makrolit Grubu Antibiyotiklere Direnç Mekanizması

Söz konusu grupta antimikrobiyal direnç oluşumunun üç yolu vardır. Bunlardan biri; antibiyotiğin ribozomal yapıya bağlanmasının önlenmesidir. Bu

bağlantı metilasyon veya mutasyon ile antibakteriyel ajanın, bakteri hücresinde tutunacağı bölgede modifikasyon meydana gelmesiyle gerçekleşir. Diğer seçenekler ise antibakteriyel ajanın akışı veya çeşitli metotlarla inaktive edilmesi şeklindedir. 1950’li yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda makrolit bir antibiyotik olan eritromisine karşı ortaya çıkan dirençliliğin; ribozomal metilasyonla Metisilin-Linkozamid-Streptogramin B’de çapraz dirençlilik oluşturduğu gözlemlenmiştir (Weisblum, 1995). Sonrasında ise eritromisin ribozomal metilaz geni olan *erm* genine, direnç özelliği gösteren mikroorganizmalarda rastlanmıştır (Roberts vd., 1999). Patojen bakterilerde *erm* proteinleri, büyük ribozomal alt grubun (50S) parçası olan 23S rRNA da bulunan adenini dimetilasyona uğratır.

Makrolit grubu antibakteriyel ajanlar; bakteri RNA’sında A2058 ve A2059 adı verilen bölgelere etki eder. Bu hedef bölgesinde oluşan kalıcı değişiklik olarak da tanımlanan mutasyonlar sonucu makrolitlere karşı direnç gelişimi gerçekleşmektedir (Vester ve Douthwaite, 2001). Makrolitlerde akışı sağlayan proteinler; plasmidlerden köken alan *msr* (A) genlerinden oluşan ABC adlı taşıyıcılardır. Akış sistemi kromozomal genler ve *msr* (A) geni sayesinde görev yapar (Ross vd., 1990). Bir diğer metod ise antibakteriyel ilacın bakteri tarafından modifikasyona uğratılmasıdır (Leclercq, 2002).

1.6.2. Glikopeptid Yapısındaki Antibiyotiklerde Direnç Mekanizması

Bu grupta yer alan antibiyotikler bakteri hücresinde mevcut olan peptidoglikanın yapısında yer alan peptidil-D alaninin uç kısmına bağlanarak bakterinin hücre duvarı sentezini engeller. Gram negatif bakteriler bu yapıdaki antibiyotiklere karşı doğal dirençlidir. Gram pozitif bakterilerde ise direnç gözlenmektedir. VAN-A, VAN-B ve VAN-C fenotipleri mevcuttur. Bu fenotiplerin oluşumuna katkı sağlayan gen grubu ve bazı başka genler bir araya gelerek; D-ala-D-ala ligaz enzimi aracılığıyla D-ala-D-laktat ile sonlanan peptid zinciri oluşumunu sağlar. Glikopeptitler ise D-ala-D-laktat peptid zincirine bağlanarak direnç oluştururlar (Gold ve Moellering, 1996).

1.6.3. Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direnç Mekanizması

Kromozomal kaynaklı direnç gözlemlenmektedir. Plasmid kaynaklı dirençler doğrulanmamıştır (Mayer, Opal ve Medeiros,1995). Florokinonlara karşı direnç mekanizmasını giraz enziminde oluşan *gyrA* ve *gyrB* genlerindeki mutasyonlarla gerçekleşir. Alt birimi kodlayan *gyrA* geni tüm bakterilerde kinolonlara karşı dirençten sorumludur. *E. coli* de ise *gyrB* geni mutasyonuyla direnç gelişimi gözlemlenir (Acar ve Goldstein, 1997).

1.6.4. Kloramfenikol Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç

Temel mekanizma plazmid kontrolünde sentezlenen ve hücre içi enzim olan kloramfenikol asetil transferaz enzimi sayesinde gerçekleşir. Enzim, kloramfenikol molekülündeki hidroksil grubunu asetil ile yıkmalar. Bu şekilde kloramfenikol grubu ilaç yapısı değişir. Ribozomlara bağlanamaz ve protein sentezi devam eder (Davies, 1994; Mayer, Opal ve Medeiros,1995). Direnç gelişimi bu yolla tamamlanır.

1.6.5. Tetrasiklin Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç

İlacın hücre içine alınımının engellenmesi, aktif pompa sistemi, ribozomal korunma şeklinde ortaya çıkar. Bakteri de kromozomal mutasyon sonucu hücre membranında geçirgenlik azalır. Buna bağlı olarak ilacın içeri alınımı da azalarak direnç gelişir. Dirence sebep olan diğer bir mekanizmada aktif pompa sistemiyle hücre içine alınan ilacın hızla dışarı atılmasıdır. Tetrasiklinde taşımadan sorumlu olan gen grubu *tetA-G*, *tetK*, *tetL*'dir. *E. coli* gibi bakterilerde marRab operonu tetrasiklinin dışarı atılımını sağlar (Nikaido, 1994; Davies 1994).

1.6.6. Rifampisin Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç

DNA'ya bağımlı olarak RNA polimeraz enzimini kodlayan *rpoB* gen bölgesini taşımaktadır. Bu gen bölgesinde meydana gelen kalıcı değişiklikler, yani mutasyonlar direncin ortaya çıkmasında etkilidir (Abbasoğlu ve Çelikbaş 2011; Spratt 1994).

1.6.7. Sülfonamid-Trimetoprim Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç

Oluşan direnç, kromozomal veya plasmid kaynaklıdır. Dirençte en sık rastlanan mekanizma ise; bakterinin sülfonamidlere düşük çekim ya da başka bir

deyişle az duyarlılık gösteren dihidro pteroat sentazın sentezlenmesi olup; bu olay plasmid kontrolündedir. Kromozomal yapının değişimi de direnci beraberinde getirir ancak önemi düşüktür (Huovinen, 1997).

1.6.8. Beta Laktam Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç

Beta laktam sınıfı antibiyotiklere karşı direnç oluşumunda çok çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Bu mekanizmalar: beta laktamaz enzimi, penisilin bağlayan proteinlerde meydana gelen değişiklikler, dış membran proteinlerinde oluşan değişimler şeklinde sıralanabilir.

Direncin oluşmasında akıllara gelen ilk enzim beta laktamazdır. Beta laktamın halka şeklinde bir yapısı olup; yapısında karbonil grubu bulunmaktadır ve Şekil 1.1' de beta laktamın kimyasal yapısı verilmiştir. Beta laktamazlar ise halka şeklindeki yapıda bulunan karbonil grubuyla bağ kurarak, var olan amid bağını kırar ve antibiyotiğin etkinliğini olumsuz etkiler. Moleküler olarak sınıflandırılmış olup A, B, C ve D gruplarını içermektedir.

Sınıf A beta laktamazlar penisilin, birinci kuşak sefalosporin ve karbapenemleri etkisiz hale getirmektedir. GSβL üzerine olan etkisi kısıtlıdır. Bunlar azitreonam, sefotaksim şeklinde sıralanabilir. TEM ve SHV enzimlerini içerir ve bu enzimler vasıtasıyla işlevini yerine getirir. Bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonrasında, bu enzimlerin yapısında bulunan genlerin bazı bölümlerinde mutasyonlar oluşmuş ve antibakteriyel etki sergileyen yeni enzimler ortaya çıkmıştır. Bunlar ise GSβL olarak isimlendirilmiştir. *E. coli* de çok sık rastlanmaktadır (Philippon, Arlet ve Lagrange, 1994; Jones, Baquero ve Privitera, 1997).

Sınıf B karbapenemazlar ise sınıf A'ya benzer şekilde karbapenem, penisilin ve sefalosporinleri baskılar (Hauskey, 1997).

Sınıf C beta laktamazlar; sadece sefalosporini parçalayabilen ve yalnızca gram negatif bakterilerde tespit edilebilen bir enzimdir. Klavulanik asitle baskılanamaz. Kromozoma konumlanmıştır (Mayer, Opal ve Medeiros,1995; Medeiros,1995).

Sınıf D beta laktamazlar; oksasilinleri parçalama yeteneğine sahiptirler. Klavulanik asit etkinliklerini baskılar. Çoęu plasmid veya transopozon kökenlidir. Konjugasyonla bir başka bakteriye direnç genlerini aktarabilirler. Direnç genleri aynı

zamanda gentamisine karşı da direnç sergilemektedir (Moellering, 1998; Sahm ve Gilmore, 1994).

Bir diğer direnç faktörü ise, penisilin bağlayan proteinlerde meydana gelen değişimlerdir. Bu mekanizma da bakterinin hücre zarında bulunan bu proteinler peptidoglikan sentezinden sorumludur. Karboksipeptidaz ve transpeptidaz bunlara örnek verilebilir. Hedef alınan bölge ise penisilin bağlayan protein 2a üretimi sonucu, antimikrobiyal ajanlara bağlanmayan veya yetersiz oranda bağlanan farklı proteinlerdir (Ayliffe, 1997; Spratt 1994).

Gram negatif bakterilerde porinlerin geçirgenliğinin azalmasına bağlı dış membran olan hücre zarı geçirgenliğinde değişim meydana gelir. *E. coli*'de Ompf, Ompc değişimleri buna örnektir. Aktif pompa sistemiyle de antibiyotığın bakteri hücresi içerisinde birikimi engellenebilir (Nikaido, 1994; Mayer, Opal ve Medeiros, 1995).

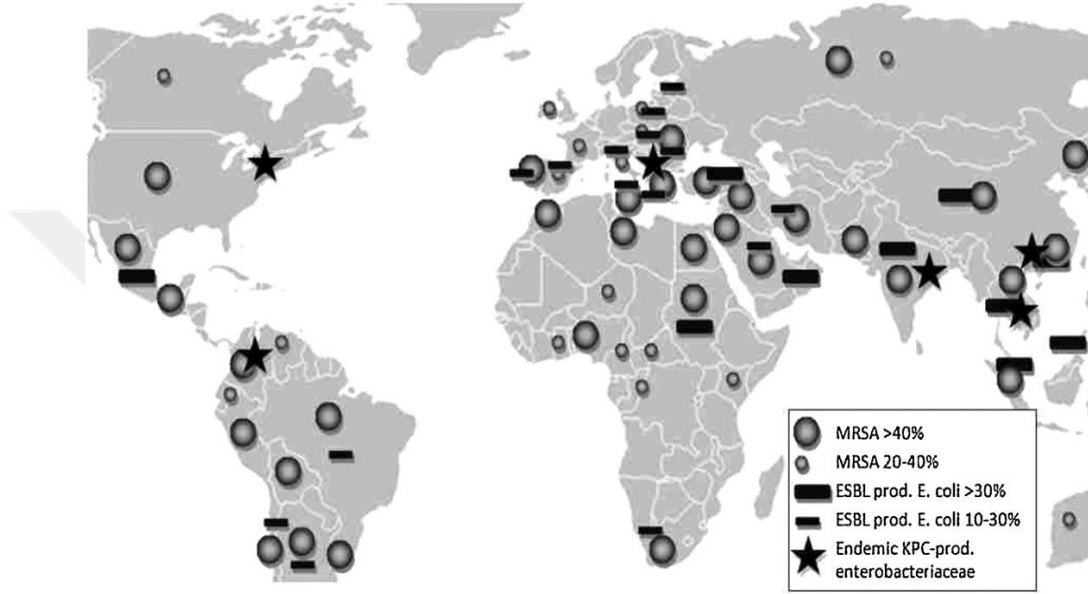
1.7. *E. coli*'ye Karşı Oluşan Antimikrobiyal Direncin Dünya ve Türkiye'deki Durumu

Diğer bakterilerde olduğu gibi *E. coli*'de de antimikrobiyal ajanlara karşı direnç, gün geçtikçe değişmekte ve farklı tablolarla karşılaşmaktadır.

Almanya'da tavuk karkası ve sekum örnekleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, farklı iki çiftlikten, tavuk sekumu ve karkas numuneleri alınmıştır. Karkas numunelerinde yaklaşık % 92 oranında GSβL üreten *E. coli* tespit edilmiştir. CTX-M enzimini kodlayan bla_{CTX-M} geni % 87, bla_{TEM} % 27, bla_{SHV} ise % 47 oranında pozitiflik saptanmıştır. Sonuç olarak 70 adet karkasın % 88'inde GSβL pozitif, % 52,9'unda ise Amp-C pozitif olarak gözlenmiştir. 51 sekum izolatının % 72,5 GSβL pozitifliği, % 56,9 Amp-C pozitif olarak saptanmıştır (Reich, Atanassova ve Kelin, 2013).

Antimikrobiyal direnç durumunun araştırıldığı başka bir çalışmada, Amerika'da, 2012 yılının ilk altı ayında, bir ya da birden çok karbapeneme dirençli enterobakteri ile enfekte olmuş hastalarda % 18 oranında direnç gözlenmiştir. Ayrıca Asya, Afrika ve Latin Amerika ülkelerinin sahip olduğu (Şekil 1.4) antimikrobiyal

direnç genlerinin, dünya üzerinde dirençli genlerin yayılması için bir rezervuar görevi üstlendiği belirtilmiştir. GSβL üreten *E. coli* suşları arasında çoklu ilaç direnci geliştiren suşların oranının % 80'den fazla olduğu bildirilmiştir. Avrupa'da karbapenem direnci gözden geçirildiğinde, % 3'ten % 50'ye kadar değişen oranlarda dirençlilik tespit edilmiştir (Theuretzbacher, 2013).



Şekil 1.4.Dünya üzerinde GSβL üreten *E. coli* ve metisiline dirençli *S. aureus* görülme sıklığı. (The Center for Disease Dynamics, Economics & Policy (<http://www.resistancemap.org>))

2012 yılında, Hollanda'da yapılan bir araştırmada, başka ülkelerden gelen tavuk eti, sebze, meyve, et ve deniz ürünlerinde GSβL ve Amp-C üreten *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerden *E. coli* ve *Klebsiella pneumonia* insidensini belirlemek amaçlanmıştır. Toplamda 200 diğer gıdalar ve 40 adet de piliç eti örneği olmak üzere, 240 numune alınmıştır. 200 numuneden, 14 tanesi GSβL ve Amp-C üreten *E. coli* ve *K. pneumonia* yönünden pozitif olarak saptanmıştır. GSβL veya Amp-C üreten *E. coli* sebze örneklerinin % 3'ünde; sebze örneklerinin % 1'inde pozitif olarak gözlenmiştir. Bu pozitif örnekler Malezya'dan ithal edilmiş olan kişniş ve acı biberdi. GSβL ve Amp-C üreten *E. coli*; Litvanya menşeli çiğ piliç eti örneklerinde ise % 17 oranında saptandı. Ayrıca GSβL ve Amp-C üreten *K. pneumonia*; çiğ piliç etinde % 1 oranında; Polonya'dan ithal edilmiş olan hindi etinde ise % 3 oranında saptanmıştır (Kurittu vd., 2021).

Hollanda’da yapılan farklı bir çalışmada ise tavuk, biftek, domuz ve karışık orijinli etler ve başka numuneler kullanılarak GSβL üreten *E. coli* miktarını tespit etmek hedeflenmiştir. GSβL üreten *E. coli* oranı; 89 adet tavuk eti numunesinden % 79,8’inde, 85 biftek numunesinin % 4,7’sinde, 57 domuz eti numunesinin % 1,8’inde, 22 karma orijinli olarak hazırlanan etlerin ve 9 diğer et numunesinin % 14’ünde GSβL üreten *Enterobacteriaceae* saptanmıştır. GSβL geni pozitifliğinin diğer gruplara göre tavuk etinde oldukça yüksek olduğu görülmüştür. *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerden ise 68 adet tavuk eti numunesinde GSβL üreten *E. coli* oranı % 76,8 olup en yüksek prevalansa sahip olmuştur. 6 adet tavuk eti numunesinde ise GSβL üreten *K. pneumonia* identifiye edilmiştir (Overdevest vd., 2011)

Güney Afrika’nın başkentlerinden biri olan Cape Town’ın doğusunda, 150 yataklı bir hastanenin atık suyunu içeren yapıdan 2 litre atık su örneği, steril bir cam şişeye alınmıştır. Farklı selektif agarlar kullanılarak yapılan 44 adet inokulasyondan, 4 tanesi *Moraxellaceae* ve 35 tanesi *Enterobacteriaceae* olarak saptanmıştır. Diğer kalan 5 örnekte farklı bakteri sınıflarıyla anlamlı bir eşleşme olmadığı için çalışmadan çıkarılmıştır. Çalışmada *Enterobacteriaceae* ailesinden tespit edilen 6 alt sınıftan birinin *E. coli* olduğu ve izolatların % 10’una karşılık geldiği belirtilmiştir. Yapılan antimikrobiyal test sonuçlarına göre *E. coli* izolatları kloramfenikole duyarlı; tetrasiklin, doksasiklin, ampisilin, sefotaksim, norfloksasin, kolistin, nalidiksik asit, trimetoprim-sülfametoksazola karşı dirençli olarak tespit edilmiştir. *Enterobacteriaceae* ailesinden tespit edilen 35 izolatın 31’inde beta laktamaz pozitifliği, *E. coli* izolatlarının ise 3 tanesinde GSβL, 1 izolatda ise Amp-C pozitifliği belirlenmiştir. GSβL direnç genleri analiz edildiğinde ise bla_{CTX-M} geni % 51,6 ile ilk sırada olup, devamında ise bla_{TEM} geni % 32,3 ile takip etmektedir. Amp-C genlerine bakıldığında ise bla_{CIT} geni % 12,9 ile en yüksek oranda tespit edilen Amp-C geni olmuştur (Fadare ve Okoh, 2021).

Bangladeş’de; içme suyu olarak kullanılan kaynak ve ev tipi sular üzerinde GSβL üreten *E. coli* prevalansı ve direnç genleri araştırılmıştır. Çalışma için 203 adet ev tipi ve 181 adet kaynak suyu test edilmiştir. *E. coli* ile kontamine kaynak sularında % 14 oranında GSβL üreten *E. coli* saptanmıştır. Ev tipi sularda ise bu oran % 19 şeklinde olmuştur. İzolatların % 71’inde ise çoklu ilaç direnci geliştiği

tespit edilmiştir. Antibiyotiklere karşı direnç gösteren *E. coli* izolatlarının plasmid kökenli olduğu da belirtilmiş olup; izolatların % 7'sinde farklı *E. coli* suşlarına ait virulens faktörlerinden en az birini taşıdığı gözlemlenmiştir. GSβL direnç genleri değerlendirildiğinde ise; CTX-M-1, CTX-M-15, CTX-M-15 ve CTX-M-1 gen birlikteliğine karşı, ortalama olarak % 65 dirençlilik tespit edilmiştir. TEM ve qnrS genlerinde ise bu oran ortalama % 35 civarı olmuştur. En düşük dirençlilik ise qnrB ve CTX-M-15, CTX-M-1 ve TEM genleri kombinasyonlarına karşı elde edilmiştir (Mahmut vd., 2020).

Türkiye'de gerçekleştirilen çalışmalardan birinde, perakende olarak satışa sunulan çeşitli tavuk etlerinde üreyen, *Enterobacteriaceae* familyası üyesi olan, *Salmonella spp.* suşlarının antimikrobiyal direnci araştırılmıştır. Toplamda farklı çeşit tavuk etlerinden (but, nugget, fileto, sosis, baget, kanat vd.) 100 adet numune örnek alınmıştır. 100 adet numunenin 35 tanesinde *Salmonella spp.* pozitif olarak tespit edilmiştir. Tüm suşların amikasin, sefalekssin, tobramisin, gentamisin ve enrofloksasine karşı dirençli olduğu; amoksisilin-klavulanik asite karşıysa duyarlı olduğu saptanmıştır. En yüksek antimikrobiyal direnç ise % 82,75 oranıyla tetrasiklin-nitrofurantoina karşı gözlenmiştir (Babacan ve Karadeniz, 2019).

Sakarya-İstanbul çevresinden toplanan 109 tavuk eti, 135 çiğ süt, 83 paketlenmemiş peynir olmak üzere 327 gıda numunesi toplanmıştır. Genel olarak 80 izolatta GSβLve/veya Amp-C pozitif olarak bulunmuştur. En yaygın suş % 68,8 ile *E. coli* iken bunu % 8,8 ile *K. pneumonia* takip etmektedir. GSβLve Amp-C enzimlerinin Disk Diffüzyon ve MIC değerlerinin, CLSI Kriterlerine göre değerlendirildiği çalışmada, 75 izolatta GSβL pozitif bulunmuş ve % 68,8 ile *E. coli*, en çok rastlanan *Enterobacteriaceae* olmuştur. 10 izolatta ise GSβL ve Amp-C pozitif bulunmuş olup, 7'sinin *E. coli*'ye ait olduğu belirtilmiştir. Amp-C açısından pozitif olan numune sayısı 5 olup *E. coli*'ye ait pozitiflik saptanmamıştır. Elde edilen bu sonuçların ise dünya genelinde Belçika, Almanya, Çin, Hollanda, Danimarka ve Polonya ile benzer olduğuda vurgulanmıştır (Özpınar vd., 2017).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Ankara ve Kırıkkale İl'lerinde, perakende olarak satışa sunulan farklı iki markaya ait, farklı sürülerde yetiştigi bilinen, tavukların fileto örneklerinden 100 adet (n=100) numune alınmış ve soğuk zincir ile laboratuvara incelenmek üzere ulaştırılmıştır.

2.1.1.Kullanılan Besi Yerleri ve Materyaller

Mac Conkey Agar (Oxoid, İngiltere),

Müller Hinton Agar (BD, Almanya),

Nutrient Agar (Oxoid, İngiltere),

Agaros (Biomax, Avrupa),

Tamponlanmış Peptonlu Su (TPS)

Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Diskleri (Oxoid, İngiltere)

E-Test Stripleri (Bioanalyze, Türkiye)

2.1.2.Kullanılan Gereçler:

Vortex cihazı,

Mc Farland Ölçer-Dansitometre,

LAMP PCR (Nova Amp, Çin),

Klasik PCR (Boeco, Almanya),

Nano-Drop Spektrofotometre (Inovia, Türkiye),

Isıtıcı blok,

1 µL'den 1000 µL'ye kadar mikropipetler,
Mikrodalga fırın.

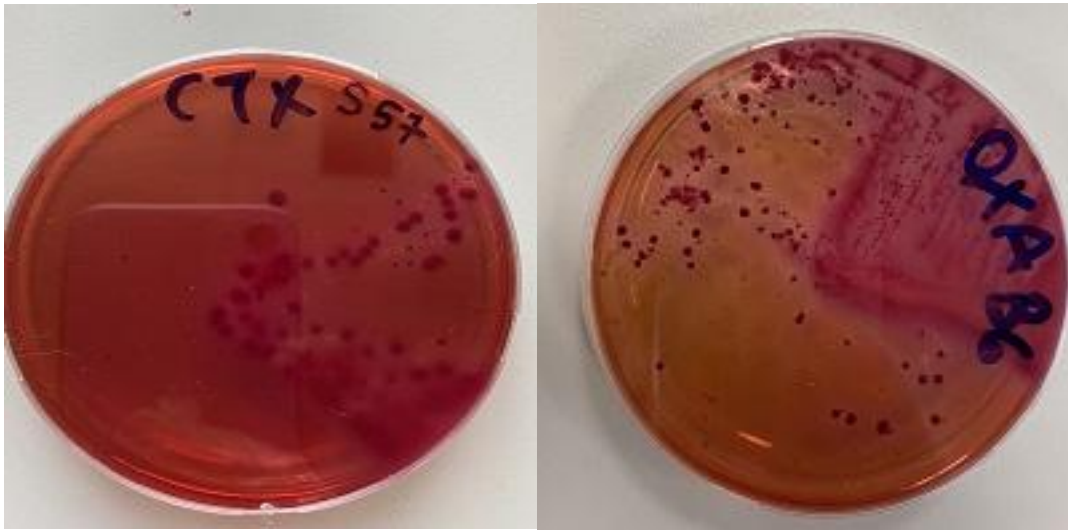
2.2. Yöntem

2.2.1. İzolasyon ve İdentifikasyon

2.2.1.1. İzolasyon

EUARL ve EFSA kriterleri doğrultusunda, 1/10 oranında olacak şekilde, 25 gr numune, 225 mL TPS içine alınarak, numuneler stomacher poşetleri içerisinde, 37°C'de 18-22 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Ön zenginleştirmeye tabi tutulan örneklerden, 0,5 µg/ml olacak şekilde, karbapenemaz aktivitesini gözlemlemek için meropenem içeren Mac Conkey Agar hazırlanmış ve 100 adet ön zenginleştirmeden ekim yapılmıştır. Petriler, 44°C'de 18-22 saat inkübasyona bırakılmıştır. Yine aynı şekilde GSβL aktivitesini gözlemlemek amacıyla sefotaksim içeren Mac Conkey Agar'a, 100 adet ön zenginleştirmeden ekimi gerçekleştirilerek, 44°C'de 18-22 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra metodun önerdiği şekilde, 3 kez Mac Conkey Agar'a *E. coli*'ye ait koloniler görülünceye dek pasajlanmıştır (EUCAST, 2021).



Şekil 2.1. Selektif Agar'a yapılan ekimler

2.2.1.2. İdentifikasyon

BBL Crystal hızlı identifikasyon sistemi ile tipik *E. coli* karakteristik özelliği gösteren, şüpheli 16 izolat identifikasyona alınmıştır. 37°C’de 18-22 saat inkübasyona bırakılmış ve Enterik-Non fermentatif bakterilere uygun kit ile identifikasyon yapılmıştır. Daha sonra kullanılmak üzere *E. coli* izolatları, Gliserinli Brain Heart Infüzyon Buyyon’da, -20°C’de, derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 2.2. BBL Crystal’de izolatların değerlendirilmesi

2.2.2. Disk Diffüzyon ve E-Test

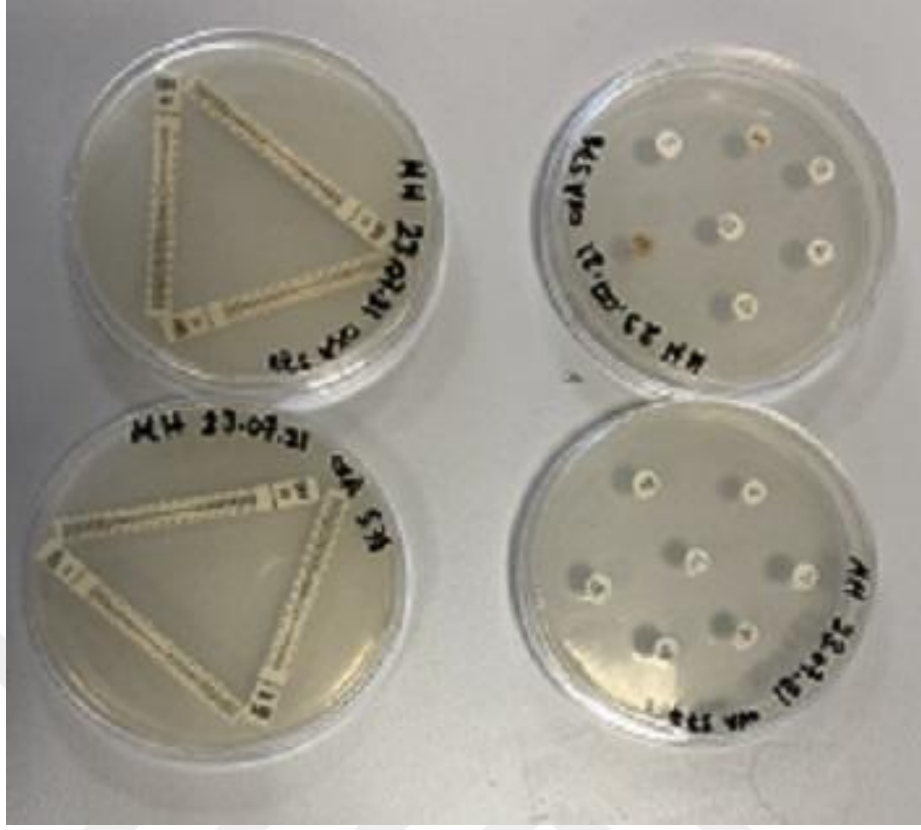
İzolatlar, Nutrient Agar’a pasajlanmış; antimikrobiyal dirençlilik testi için disk diffüzyon testine (Kirby-Bauer), minimal inhibisyon konsantrasyonunu belirlemek üzere E-Test’e tabi tutulmuştur. İzolatlardan 0,5 Mc Farland olacak şekilde, steril 1 mL fizyolojik tuzlu su ile süspansiyon hazırlanmıştır. Süspansiyondan alınarak disk diffüzyon testi için, Müller Hinton Agar’a ekim yapılmıştır. Disk diffüzyonda kullanılan diskler, çizelge 2.1’ de belirtilmiş olup; antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesi için, agarlar 37°C’de 18-22 saat inkübasyona bırakılmış; oluşan zon çapları ölçülerek EUCAST veya CLSI Kriterleri’ne göre değerlendirme yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır (EURL-AR Protokolü, 2020).

Çizelge 2.1. Disk diffüzyon testi değerlendirme kriterleri

DİSK DİFFÜZYON ANTİBİYOTİK DİSKLERİ	ANTİBİYOTİK İSİMLERİ	EUCAST'E GÖRE DİSK DİFFÜZYON DİRENÇLİLİK ZON ÇAPLARI
TE*	Tetrasiklin	$S \geq 15$, $I = 12-14$, $R \leq 11$
C*	Kloramfenikol	$S \geq 18$, $I = 13-17$, $R \leq 12$
OT*	Oksitetrasiklin	$S \geq 15$, $I = 15-18$, $R \leq 14$
CAZ-CLA	Seftazidim-Klavulanik Asit	$S \geq 22$, $R < 19$
CAZ	Seftazidim	$S \geq 22$, $R < 19$
CTX	Sefotaksim	$S \geq 20$, $R < 17$
CTX-CLA	Sefotaksim-Klavulanik Asit	$S \geq 20$, $R < 17$
GM	Gentamisin	$S \geq 17$, $R < 17$
MEM	Meropenem	$S \geq 22$, $R < 16$
CIP	Siprofloksasin	$S \geq 25$, $R < 22$
FOX*	Sefoksitin	$S \geq 18$, $I = 15-17$, $R \leq 14$
AM*	Ampisilin	$S \geq 17$, $I = 14-16$, $R \leq 13$
NA*	Nalidiksik Asit	$S \geq 19$, $I = 14-18$, $R \leq 13$
SXT	Trimetoprim/Sulfametoksazol	$S \geq 14$, $R < 11$

(*) EUCAST'te değerlendirme kriteri olmayan, CLSI'e göre değerlendirmesi yapılanlar.

Disk diffüzyon testinde, CTX ve CTX-CLA ve CAZ ve CAZ-CLA kombinasyonları arasındaki zon farkı, 5mm ve daha fazlaysa GSβL pozitif olarak değerlendirilmektedir. FOX'a karşı var olan direnç, Amp-C pozitifliğini göstermektedir (EUCAST, 2021). E-Test'te ise meropeneme karşı duyarlılık mevcutsa, karbapenemaz aktivitesi negatif olarak değerlendirilmektedir (EUCAST, 2021).



Şekil 2.3. Disk diffüzyon ve E-Test

Çizelge 2.2. E-Test'te (MIC) kullanılan antibiyotikler ve dirençlilik-duyarlılık değerleri (EUCAST ve CLSI, 2021)

E-TEST STRİPLERİ	İÇERDİĞİ ANTİBİYOTİK MİKTARI (µg/ml)	EUCAST'E GÖRE DİRENÇLİLİK ZONE ÇAPI (mm)	EUCAST'E GÖRE DUYARLILIK ZONE ÇAPI (mm)
MP (Meropenem)	0,02-32	>8	<2
CT (Sefotaksim)	0,016-256	>2	<1
TZ (Seftazidim)	0,016-256	>4	<1
IPM (İmipenem)**	0,02-32	>0,5	<0,5
CO (Kolistin)	0,016-256	>2	<2
FX (Sefoksitin)*	0,016-256	≥32	≤8
CT+CLA*(Sefotaksim- Klavulanik Asit)	0,016-1	>2	≤1
TZ+CLA (Seftazidin- Klavulanik Asit)	0,064-4	>4	≤11

*EUCAST'e göre değerlendirilme kriteri mevcut olmayan, CLSI'a göre değerlendirilenler.

**EUCAST ve CLSI'da değerlendirilme kriteri olmayan, EURL-AR'ye göre değerlendirilenler.

Seftazidin-Klavulanik Asit (TZ-CLA) ve Sefotaksim-Klavulanik Asit (CT-CLA) kombinasyonunda, aralarındaki korelasyona göre GSβL pozitif veya negatif olarak yorumlanmaktadır (EURL-AR, 2021).

Çizelge 2.3. EURL-AR'ye göre GSβL yorumu

GSβL	MIC DEĞERİ	Yorum
Pozitif	$CT \geq 0.5$ ve $CT/CTL \geq 8$ veya $TZ \geq 1$ ve $TZ/TZL \geq 8$ veya $PM \geq 0.25$ ve $PM/PML \geq 8$	GSβL pozitif Tüm penisilin, sefolosporin ve azitroneoma karşı dirençlidir.
Negatif	$CT < 0.5$ veya $CT/CTL < 8$ ve $TZ < 1$ veya $TZ/TZL < 8$	GSβL negatif
Değerlendirilemiyor	$CT > 16$ ve $CTL > 1$; $TZ > 32$ ve $TZL > 4$; $PM > 16$ ve $PML > 4$	Değerlendirme yapılamıyor.

2.2.3. Moleküler Yöntemler

2.2.3.1. DNA İzolasyonu

Moleküller yöntem olan Klasik PCR ve LAMP PCR için, pozitif numunelerden DNA ekstraksiyonu yapıldı. Ekstraksiyon amacıyla; pozitif izolatlardan 1 koloni alınarak, 100 µl steril distile su içinde süspanse edildi. Tüpler 95°C'de 10 dakika tutularak, daha sonra 10.000 rpm devirde, 2 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar steril ependoflara elektronik pipet yardımıyla alındı. Daha sonra nano-drop spektrofotometre ile elde edilmiş DNA'ların miktarları ng/mL olarak ölçüldü (Dallenne vd., 2010).

Mililitrede 1 ng/mL olacak şekilde; nano-drop spektrofotometre'de ölçülen DNA'lar hazırlandı. Bu hazırlık aşağıda bulunan kütle ve hacim denkleminde çıkan değere göre yapıldı (Dallenne vd., 2010).

$$M_1.V_1=M_2.V_2$$

2.2.3.2. Klasik PCR

Antimikrobiyal direncin belirlenmesi için kullanılan genler; GS β L için kullanılan genler; CTXM-9, CTXM-1, SHV, TEM, OXA-1 şeklindedir. Amp-C için kullanılan gen ise FOX geni olmuştur. Karbapenemaz için kullanılan genler ise OXA-48, IMP, VIM, KPC ve NDM-1 şeklindedir (Dallenne vd., 2010).

Klasik PCR testi, izolatlarda GS β L, Amp-C ve karbapenemaz varlığını moleküler olarak test etmek amacıyla kullanıldı. Klasik PCR için; 12,5 μ l master mix, 1 μ l hazırlanan DNA'dan, 5 μ l primer ve 6,5 μ l steril distile su alınarak, toplam hacim 25 μ l olacak şekilde, ependorf tüp içerisinde hazırlanmıştır.

Klasik PCR'da 94°C'de 10 dk kaynatılmıştır. Sonra; 94°C'de 40 sn., 60°C'de 40 sn., 72°C'de 1dk. olacak şekilde 30 siklus gerçekleştirilmiştir. Devamında ise; 72°C'de 7 dk. olarak protokol tamamlanmıştır (Dallenne vd., 2010).



Şekil 2.4. Thermal Cykler cihazı

2.2.3.3. Lamp PCR

Antimikrobiyal direncin belirlenmesi için kullanılan genler; Lamp PCR'da ise Karbapenemaz aktivitesi için kullanılan genler OXA-48, VIM, IMP, KPC ve NDM şeklindedir.

LAMP PCR’da ise sadece karbapenemaz primerleri literatür bilgi olarak temin edilebildiği için karbapenemaz varlığı test edilebilmiştir. LAMP PCR için; 15 µl master mix, 5µl DNA, 5 µl primer alınarak, toplam hacim 25 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Isıtıcı blokda, 65°C’de 30 dk.bırakıldı (Dallenne vd., 2010; Rasmussen ve Bush, 1997).

2.2.3.4. Elektroforez

PCR çalışmaları sonrasında, agaroz jel için, 100 ml 1XTAE’ye, 1 gr agaroz eklenerek, % 1’lik agaroz hazırlandı. % 1’lik agaroz, mikrodalga fırında berrak hale getirildi ve taraklı jel tankına dökülerek, jel haline gelmesi sağlandı. Elektroforez tankı, yeterli miktarda 1XTAE ile dolduruldu. İlk kuyucuğa 10 µl DNA-Ladder ve 1µg 6XLoading Dye karıştırılarak, her kuyucuğa pozitif numune DNA’sından 5 µl ve 1 µl 6XLoading Dye karıştırılarak yerleştirildi. Yerleşme işlemi tamamlandıktan sonra, 100 Volt’ta, 1 saat yürütüldü. Oluşan bantlar, UV ışık altında GSβL, Amp-C ve karbapenemaz açısından değerlendirildi.

Aynı işlemler tekrarlanarak, pozitif olan numunelerin hangi enzimleri taşıdığını belirlemek amaçlı, her bir gen yönünden tek tek olacak şekilde Klasik PCR ve LAMP PCR testleri tekrarlandı. Pozitif olan numunelerin, 5 farklı enzimden hangi enzim/enzimler nedeniyle pozitiflik gösterdiği belirlendi.

2.2.3.5. TPS’den DNA İzolasyonu

Çalışmada, ayrıca *E. coli* saptanan kanatlı etlerinden, 9 ml TPS’ye; 1 gr kanatlı eti, her numune için ayrı olacak şekilde alındı.

37°C’de 18-22 saat inkubasyona bırakıldı ve TPS’den, direkt DNA izolasyonu yapıldı. Enzim aracılı izolasyon için ependorf tüplerine 1 µl enzim, 10 µl buffer ve 20 µl ilgili örneğe ait TPS’den örnek alındı ve üzerine 69 µl steril distile su konularak, karışım 100 µl’ye tamamlandı. Devamında ise 75°C’de 15 dakika ve 95°C’de 5 dakika kaynatılarak DNA’lar izole edildi. İzole edilen DNA’lar nano-drop spektrofotometre ile ölçülerek yeniden Klasik PCR ve LAMP PCR testine tabi tutuldu.

3. BULGULAR

3.1. İzolasyon ve identifikasyon

Çalışmada, 100 adet tavuk filetosundan, EURL-AR tarafından önerilen metodla, 7 adet izolat *E. coli* olarak identifiye edilmiştir. *E. coli* yönünden pozitif olan numuneler S78, S68, S49, S42, S9, B6 ve B8 şeklindedir.

3.2. Disk Diffüzyon Sonuçları

Disk diffüzyon testi sonuçlarına göre sırasıyla izolatlar ve dirençlilik özellikleri aşağıdaki şekildedir:

S78: Tetrasiklin, kloramfenikol, oksitetrasiklin, sefoksitin, sefotaksim, siprofloksasin, seftazidim, ampisiline karşı dirençli; meropenem ve nalidiksik asite intermedier; gentamisin, trimetoprim/sulfametaksazole duyarlı;

S68: Tetrasiklin, kloramfenikol, oksitetrasiklin, siprofloksasin, ampisilin, nalidiksik asite karşı dirençli; sefotaksim, seftazidim, geentamisin, meropenem, sefoksitine karşı duyarlı;

S42: Tetrasiklin, kloramfenikol, oksitetrasiklin, sefotaksim, seftazidim, sefoksitin, ampisiline karşı dirençli; meropenem ve siprofloksasine intermedier; gentamisin ve sefoksitine duyarlı;

S49: Tetrasiklin, oksitetrasiklin, siprofloksasin, sefoksitin, ampisilin, nalidiksik asit, trimetoprim/sulfametaksazol'e dirençli; kloramfenikol, sefotaksim, seftazidim, gentamisin, meropeneme duyarlı;

S9: Tetrasiklin, kloramfenikol, oksitetrasiklin, gentamisin, siprofloksasin, sefoksitin, ampisilin, nalidiksik asit, trimetoprim/sulfametaksazole dirençli; seftazidim'e intermedier; sefotaksim, meropeneme karşı duyarlı;

B6: Tetrasiklin, kloramfenikol, oksitetrasiklin, siprofloksasin, sefoksitin, ampisilin, nalidiksik asit, trimetoprim/sulfametaksazole dirençli; sefotaksim, seftazidim, gentamisin, meropeneme duyarlı;

B8: tetrasiklin, sefoksitine dirençli; kloramfenikol, oksitetrasiklin, sefotaksim, seftazidim, gentamisin, meropenem, siprofloksasin, ampisilin, nalidiksik asit, trimetoprim/sulfametaksazole duyarlı olarak saptanmıştır.

İzolatların hepsinde aynı zamanda multiple dirençlilik (MRD) görülmüştür. En çok sırasıyla multiple dirençlilik S9 (9 adet antibiyotik) şeklindedir.

7 adet suşun tamamında tetrasikline karşı dirençlilik durumu söz konusudur.

Disk diffüzyon testi sonuçlarına göre;

7 adet *E. coli* izolatından 2'sinde GSβL ve 6'sında Amp-C aktivitesi yönünden pozitiflik saptanmıştır.

Diğer taraftan CAZ ve CAZ-CLA kombinasyonu ve CTX ve CTX-CLA kombinasyonu arasındaki zon farkı 5 mm ve daha fazla olan S78, S42 izolatları da GSβL pozitif olarak belirlenmiştir.

FOX geni dirençli olan S78, S42, S49, S9, B6 ve B8 suşlar, Amp-C pozitif olarak değerlendirilmiştir.

İzolatların hepsi meropeneme duyarlı olduğu için karbapenemaz aktivitesi yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir. Disk diffüzyon değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Disk diffüzyon test sonuçları

DİSK DİFÜZYON TESTİNDE KULLANILAN ANTİBİYOTİK DİSKLER														
<i>E. coli</i> İzolatları	TE	C	OT	CAZ- CLA	CAZ	CTX	CTX- CLA	GM	MEM	CIP	FOX	AM	NA	SXT
S78	0/R	0/R	0/R	26/S	17/R	0/R	21/S	22/S	21/I	21/R	8/R	0/R	17/I	29/S
S68	0/R	0/R	0/R	30/S	29/S	29/S	28/S	26/S	25/S	0/R	20/S	0/R	0/R	30/S
S42	0/R	0/R	0/R	28/S	16/R	16/R	20/S	26/S	18/I	22/I	0/R	0/R	8/I	31/S
S49	0/R	27/S	0/R	29/S	29/S	30/S	28/S	23,5/S	23/S	19/R	11/R	0/R	0/R	0/R
S9	0/R	0/R	0/R	23/S	20/I	22/S	18/I	12/R	23/S	10/R	0/R	0/R	0/R	0/R
B6	0/R	0/R	0/R	28/S	26/S	30/S	28/S	22/S	25/S	21/R	10/R	0/R	0/R	0/R
B8	10/R	26/S	20/S	25/S	27/S	32/S	28/S	24/S	27/S	33/S	13/R	22/S	28/S	22/S

3.3. E-Test Sonuçları

E-Test sonuçlarına göre sırasıyla izolatlar ve dirençlilik özellikleri aşağıdaki şekildedir:

S78: Seftazidim, sefoksitin, imipenem, kolistine karşı dirençli; meropenem, sefotaksime karşı duyarlı;

S68: İmipenem, kolistine karşı dirençli; meropenem, sefotaksim, seftazidim, sefoksitine karşı duyarlı;

S49: Sefoksitin, imipenem, kolistine karşı dirençli; meropenem, sefotaksim, seftazidime karşı duyarlı

S42: Seftazidim, sefoksitin, imipenem, kolistine karşı dirençli;meropenem, sefotaksime karşı duyarlı;

S9: İmipenem, kolistine karşı dirençli; meeropenem, sefotaksim, seftazidim, sefoksitine karşı duyarlı;

B6: Seftazidim, sefoksitin, imipenem, kolistine karşı dirençli; meropenem, sefotaksime karşı duyarlı;

B8: İmipenem, kolistine karşı dirençli; meropenem, sefotaksim, seftazidim, sefotaksime karşı duyarlı olarak tespit edilmiştir.

İzolatların hepsinde aynı zamanda multiple dirençlilik (MRD) görülmüştür. En çok multiple dirençlilik S78 (4), S42 (4) ve B6 (4) izolatlarında gözlemlenmiştir.

E-Test sonuçlarına göre;

7 adet *E. coli* izolatından 1'inde GSβL ve 4'ünde Amp-C aktivitesi yönünden pozitiflik saptanmıştır.

FOX geni dirençli olan S78, S42, S49 ve B6 suşlar, Amp-C pozitif olarak değerlendirilmiştir.

İzolatların hepsi meropeneme duyarlı olduğu için karbapenemaz aktivitesi yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir.

TZ-CLA ve CAZ-CLA kombinasyonlarını değerlendirdiğimizde sadece S68 izolatı GSβL pozitifdir.

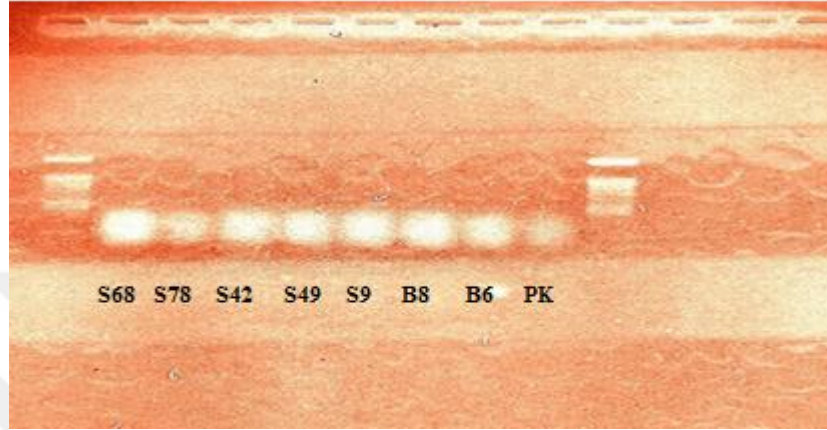
Tüm suşların kolistine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. E-Test değerleri aşağıda Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. E-Test sonuçları

	E-TEST SONUÇLARI (R/S)							
<i>E. coli</i> İzolatları	MP	CT	CT-CLA	TZ	TZ-CLA	FX	IPM	CO
S78	0,094/S	0/S	0/19	32/R	0/38	32/R	0,19/R	0/R
S68	0,064/S	0,125/S	25/0,23	0,25/S	50/0,64	8/S	0,125/R	0/R
S49	0,064/S	0,125/S	-	0,38/S	-	24/R	0,19/R	0/R
S42	0,047/S	64/S	0/19	6/R	0/38	12/R	0,125/R	0/R
S9	0,064/S	0,19/S	-	0,38/S	-	8/S	0,19/R	0/R
B6	0,064/S	1,5/S	0/0	6/R	0/0	128/R	0,19/R	0/R
B8	0,032/S	0,19/S	-	0,5/S	-	1,5/S	1,9/R	0/R

3.4. Klasik PCR Sonuçları

Yapılan Klasik PCR çalışması ile moleküler yöntemlerle GSβL, Amp-C ile karpenemaz varlığını saptamak hedeflenmiştir. Klasik PCR’da Şekil 3.1’ deki gibi 7 izolatın tamamı GSβL aktivitesi yönünden pozitif olarak gözlemlenmiştir.



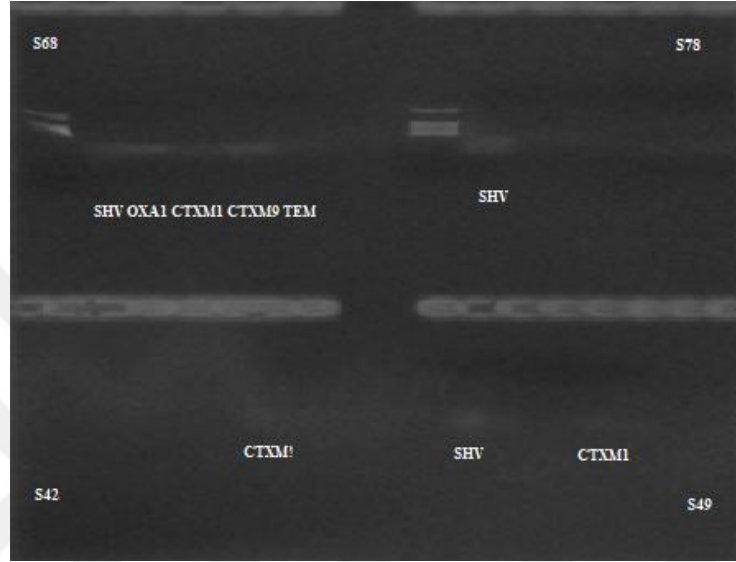
Şekil 3.1. Klasik PCR GSβL ampliconları ve pozitif kontrolün elektroforez sonrası bantları

Aşağıda Şekil 3. 2’de Klasik PCR’a GSβL genleri SHV, OXA-1, CTXM-9, CTXM-1 ve TEM olacak şekilde PCR ampliconları yerleştirilmiştir. B6 izolatında CTXM-1 ve OXA-1 genleri pozitif, S9 izolatında ise SHV, OXA-1, CTXM-9 ve CTXM-1 genleri pozitif olarak değerlendirilmiştir.



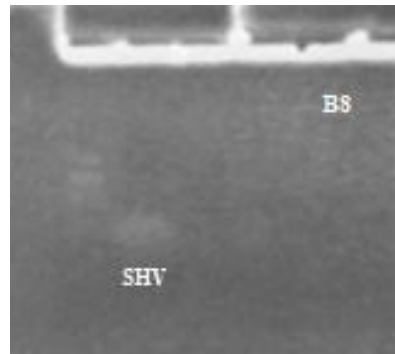
Şekil 3.2. Klasik PCR B6 ve S9 izolatlarının GSβL aktivitesi

Şekil 3. 3'te en üst iki sıra sırasıyla S68, S78 izolatlarına; alt iki sıra S42, S49 izolatlarına aittir. GSβL genleri SHV, OXA-1, CTXM-9, CTXM-1 ve TEM genlerini içerecek şekilde sırasıyla PCR ampliconları yerleştirilmiştir. S68 izolatında tüm genler pozitif olarak değerlendirilmiştir. S78 için SHV, S42 için CTXM-1 ve S49 için SHV ve CTXM-1 genleri pozitif olarak gözlemlenmiştir.



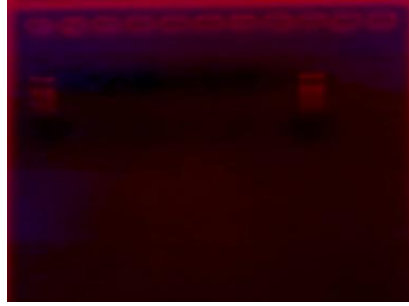
Şekil 3.3. Klasik PCR S68, S78, S42 ve S49 GSβL aktivitesi

Klasik PCR'da B6 ve B8 izolatları sırasıyla SHV, OXA-1, CTXM-9, CTXM-1 ve TEM genlerini içerecek şekilde GSβL aktivitesini belirlemek amacıyla çalışılmıştır. B6 izolatında CTXM-1, OXA-1 genleri; B8 izolatında ise SHV genlerinde bant oluşumu gözlenmiş olup pozitif olarak değerlendirilmiştir.



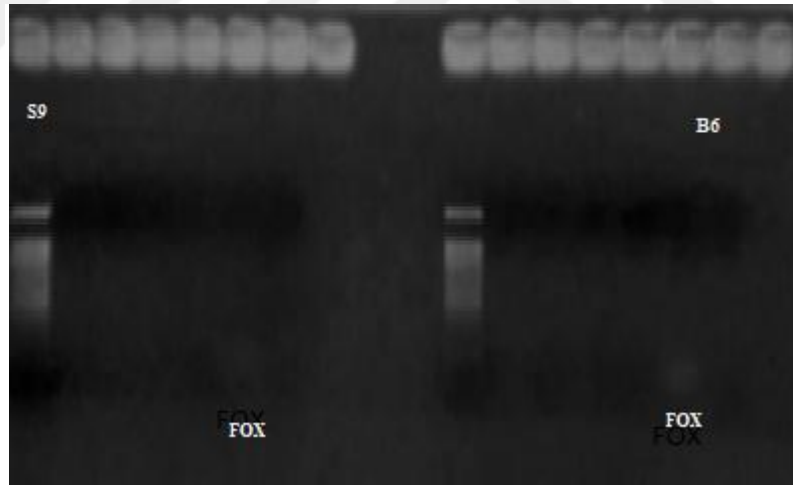
Şekil 3.4. Klasik PCR B8 GSβL aktivitesi

S42 izolatında Şekil 3.5'te görüldüğü gibi karbapenemaz ve Amp-C aktivitesi gözlenmemiştir.



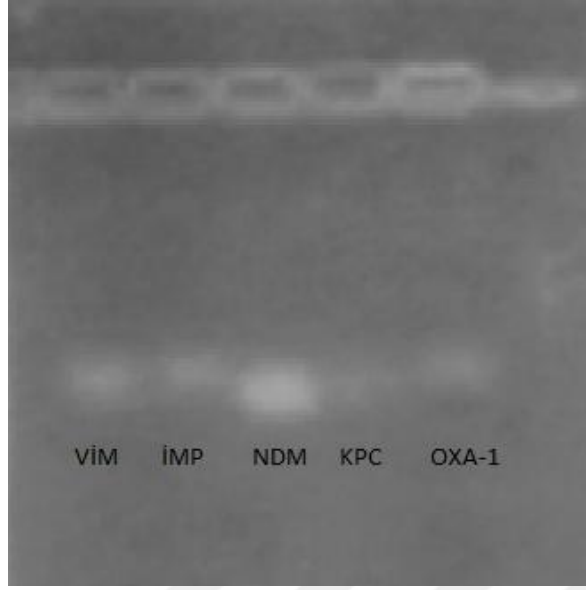
Şekil 3.5. Klasik PCR S42 izolatı karbapenemaz ve Amp-C aktivitesi

Klasik PCR'da yapılan Karbapenemaz ve Amp-C genlerine karşı pozitifliğin test edildiği uygulamada karbapenemaz genlerine karşı S9 ve B6 izolatlarında pozitiflik görülmemiştir. Ancak Amp-C geni FOX'a karşı 2 izolatta pozitif olarak değerlendirilmiştir.



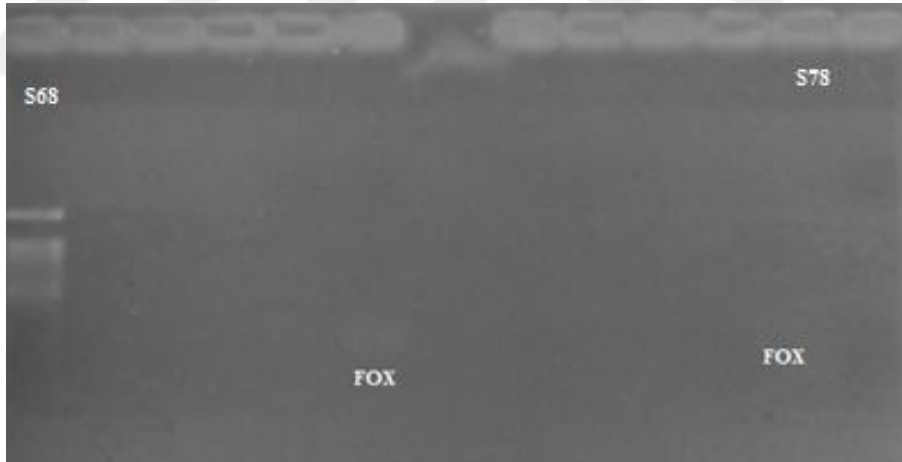
Şekil 3.6. Klasik PCR S9 ve B6 izolatları karbapenemaz ve Amp-C aktivitesi

Klasik PCR'da S49 izolatında karbapenemaz aktivitesinde sırasıyla yerleştirilen NDM, OXA-48, IMP, VIM, KPC genlerinin hepsinde pozitiflik gözlenmektedir.



Şekil 3.7. Klasik PCR S49 izolatu karbapenemaz aktivitesi

S68 ve S78 izolatlarında Amp-C aktivitesini gösteren FOX geni pozitif olarak değerlendirilmiştir. Karbapenemazda pozitiflik gözlenmemiştir.



Şekil 3.8. Klasik PCR S68 ve S78 Karbapenemaz ve Amp-C aktivitesi

Çizelge 3.3. Klasik PCR, GSβL, Amp-C ve karbapenemaz genleri açısından izolatların değerlendirilmesi

KLASİK PCR, GSβL, Amp-C ve KARBAPENEMAZ GENLERİ AÇISINDAN İZOLATLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ											
	KARBAPENEMAZ					Amp-C	GSβL				
<i>E.coli</i> izolatları	NDM	OXA 48	IMP	VIM	KPC	FOX	CTX M-1	CTX M-9	SHV	TEM	OXA 1
S68						+	+	+	+	+	+
S78						+			+		
S42							+				
S49	+	+	+	+	+		+		+		
S9						+	+	+	+		+
B8									+		
B6						+	+				+

Klasik PCR sonuçlarına göre 7 izolatın sadece birinde (S49) karbapenemaz aktivitesine ait KPC geni saptanmıştır. Karbapenemaz aktivitesi yönünden S49 nolu izolat pozitif bulunmuştur. Amp-C aktivitesi yönünden S68, S78, S9 ve B6 izolatları (%57) pozitif bulunmuştur. İzolatların hepsinde GSβL aktivitesi tespit edilmiş olup; sırasıyla en çok CTXM-1 (%71) ve SHV1 (%71), OXA-1 (%42,8), CTXM-9 (%28,5) ve TEM (%14,2) saptanmıştır.

TPS'den enzim aracılığıyla DNA izolasyonu uygulanmış; Klasik PCR'da yapılan GSβL analizinde tüm izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.10. TPS'den klasik PCR'da yapılan GSβL analizi

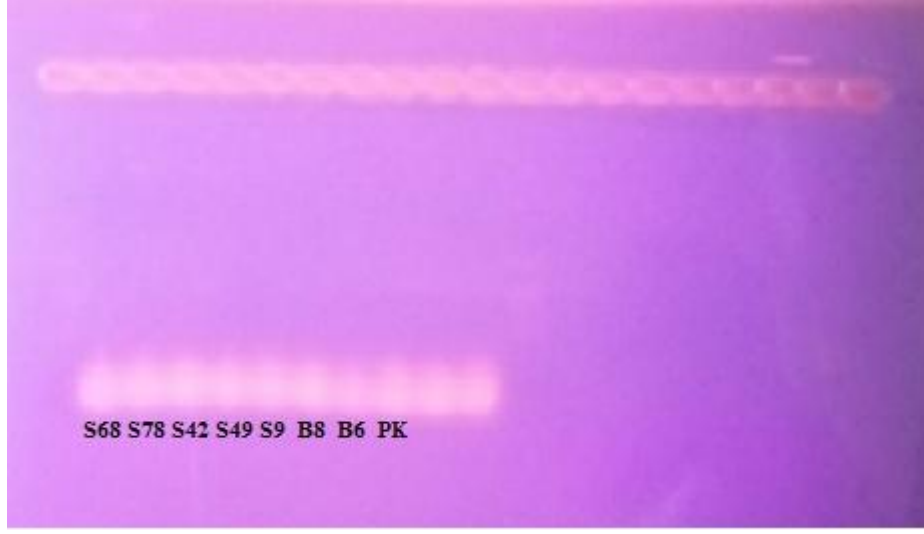
TPS'den klasik PCR'da yapılan GSβL analizi sonucunda oluşan bantlara göre sırasıyla S78, S68, S49, S42, S9, B8'de karbapenemaz ve Amp-C pozitif olarak değerlendirilmiştir. B6 nolu izolatta karbapenemaz aktivitesi görülmemiştir.



Şekil 3.11. Tamponlanmış peptonlu sudan klasik pcr ile yapılan karbapenemaz ve Amp-C analizi

3.5. LAMP PCR Sonuçları

Lamp PCR'da yapılan analizde tüm izolatlar karbapenemaz açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.9. LAMP PCR’da yapılan karbapenemaz analizi.

TPS’den izole edilen DNA’ların PCR ve Lamp PCR testleri sonucunda GS β L, Amp-C ve karbapenemaz aktivitesi yönünden kuvvetli pozitiflikler saptanmıştır.

4. TARTIŞMA

Tavuk filetolarından izole ve identifiye edilen 7 adet *E. coli* izolatının antimikrobiyal direnç özellikleri farklı yöntemlerle saptanmış ve karşılaştırılmıştır.

Çalışmada Disk Diffüzyon ve E-Test sonuçları karşılaştırıldığında;

Disk diffüzyon testinde S78 ve S42 izolatları GSβL aktivitesi yönünden pozitif bulunurken; E-Test'te sadece S68 izolatı pozitif olarak tesbit edilmiştir.

Disk diffüzyon testinde S78, S42, S49 ve B6 izolatlarına ek olarak B8 izolatı da FOX'a karşı dirençli olarak saptanmış olup, Amp-C pozitif olarak değerlendirilmektedir.

Disk diffüzyon testinde S78 ve S42 izolatları meropeneme karşı intermedier; diğer izolatlar duyarlı bulunmuştur. E-Test'te ise tüm izolatlar meropeneme duyarlı bulunmuştur. Bu nedenle karbapenemaz aktivitesi her iki testte de negatif olarak değerlendirilmiştir.

Konvansiyonel metodlarla moleküler yöntemler karşılaştırıldığında;

GSβL aktivitesi yönünden tüm metotlarda pozitif olan izolatlar mevcuttur. Disk Diffüzyonda 2 adet izolat (S78 ve S42), E-Testte 4 izolat (S78, S49, S42 ve B6), Klasik PCR'da izolatların tamamında GSβL aktivitesine ait genler pozitif olarak tesbit edilmiştir.

Amp-C aktivitesi yönünden; disk diffüzyon testinde S68 hariç tüm izolatlarda E-Testte S78, S49, S42 ve B6 nolu izolatlarda; Klasik PCR'da da S68, S78, S9 ve B6 nolu izolatlarda pozitiflik saptanmıştır.

Karbapenemaz aktivitesi yönünden; disk diffüzyon ve E-Test'te hiç pozitif numune tespit edilmemiş; Klasik PCR'da ise sadece S49 nolu izolat pozitif olarak tesbit edilmiştir. Lamp PCR'da ise izolatların hepsi karbapenemaz açısından pozitif olarak saptanmıştır.

Klasik PCR ve LAMP PCR sonuçları karşılaştırıldığında;

Klasik PCR’da sadece S49 izolatu karbapenemaz aktivitesi yönünden pozitifken; LAMP PCR’da tüm isolatlar karbapenemaz açısından pozitif olarak saptanmıştır.

Genel olarak karşılaştırıldığında:

Disk difüzyon ve E-Testler karşılaştırıldığında: GSβL sonuçları farklı, Amp-C ve karbapenemaz aktivitesi yönünden birbirine yakın bulunmuştur.

Klasik PCR’da disk diffüzyon ve E-Test’e göre, daha fazla GSBL geni tespit edilmiş; Amp-C kısmen daha uyumlu, karbapenemaz aktivitesi bir izolatta (S49) pozitif, LAMP PCR’da tüm isolatlar pozitif bulunmuştur.

TPS’den izole edilen DNA’ların PCR ve Lamp PCR testleri sonucunda GSβL, Amp-C ve karbapenemaz aktivitesi yönünden kuvvetli pozitiflikler saptanmıştır. Bunun nedeni olarak, kullanılan primerlerin *Enterobacteriaceae* familyasına ait olması ve TPS içerisinde *E. coli* dışında da *Enterobacteriaceae* familyasına ait başka bakterilerin de bu genleri taşıdığı düşünülmektedir.

Diğer ülkelerde yapılan çalışmalara bakıldığında, Hollanda’da yapılan bir çalışmada, 89 tavuk eti numunesinden 68’inde GSβL üreten *E. coli* tespit edilmiş olup, % 76,8’e karşılık gelmektedir (Overdeest vd., 2011). Ayrıca GSβL genlerinden en çok rastlanan gen % 58 ile bla_{CTX-M-1} geni olmuştur. Çalışmada ise GSβL üreten *E. coli* Klasik PCR test sonuçlarına göre, 7 adet izolatta (% 71’inde) görülmüş olup en yaygın gen ise bu çalışmayla paralel olarak CTX-M-1 ile birlikte SHV’dir.

Hollanda’da, geleneksel ve organik yolla üretilmiş tavuklardan alınan çiğ et numuneleriyle yapılan çalışmada, 98 tavuk etinden 163 izolat elde edilmiştir. Örneklerin % 92’sinde GSβL üreten en az bir *E. coli* saptanmış olup; CTX-M-1 geni prevalansı organik metotla üretilmiş tavuk etlerinde % 56 iken; geleneksel metotla üretilen tavuklarda % 42 oranında olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda siprofloksasine karşı % 14 direnç tespit edilmiştir. Çalışmamızda siprofloksasine karşı mevcut direnç söz konusu çalışmadan daha fazla olup % 71 dolaylarındadır. Direncin yüksek olmasının nedeni; hayvanların yetiştirme yönü ya da isolatların

orijinine bağılı olarak değerdendirilebilir Bu çalışmayla uyumlu şekilde prevalansı en yüksek tespit edilen genlerden biri CTX-M-1'dir (Stuart vd., 2012).

İnsan ve kanatlı hayvanların dışkı materyalinden GSβL üreten *E. coli* ile yapılan araştırmada; 140 tavuk ve 54 çocuktan rektal swap alınmıştır. Tavukların 41'inde; çocukların ise 33'ünde GSβL üreten *E. coli*'ye rastlanmıştır. Tavuk etlerinde bu oran % 29'a karşılık gelmekte olup; çalışmamızda bu oran % 7 olarak tespit edilmiştir. Gana'da ki çocuklarda görülen *E. coli* enfeksiyonlarının kaynağı olarak kanatlı kümeslerinin olabileceğı varsayılmaktadır. İnsan ve kanatlı rektal örneklerinin ikisinde de yaygın gen olarak CTX-M-1 tespit edilmiş ve birçok çalışmayla paralellik göstermiştir (Falgenhauer vd.,2019).

Türkiye'de, Bolu İl'i ve çevresinden toplanan 283 izolat arasından 135 numune tavuk etine ait olmakla birlikte, GSβL üreten *E. coli* varlığı araştırılmıştır. Yapılan analizler ve PCR çalışmaları sonucunda 135 numuneden 114'ünde (% 84,4) GSβL üreten *E. coli* geni olarak bla_{TEM} genine rastlanmıştır (Keskin, 2019). Söz konusu çalışmada, bla_{CTX-M} geni hiçbir izolatta tespit edilememiştir ve bunun nedeni meteryallerin orijininin farklı olmasından kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda en çok bla_{CTX-M-1} ve bla_{SHV} geni tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, CLSI verileri kullanılarak, kesin GSβL üreten *Enterobacteriaceae* sınıfından bir bakteriyi taşıdığı bilinen 29 tavuk eti, 24 çiğ süt ve 2 adet peynir orijinli olmak üzere toplam 55 adet izolat kullanıldı. 29 adet tavuk etinden 24 tanesinde *E. coli* varlığı bildirilmiş; kalan beş izolatın ise *Enterobacteriaceae* sınıfından başka bir bakteriye ait olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* suşlarında en baskın genin bla_{TEM} geni olduğu, sonrasında ise bu çalışma ile uyumlu olacak şekilde bla_{CTXM} geni tespit edilmiştir. Ayrıca GSβL üreten *Enterobacteriaceae* sınıfından en yaygın olan bakterinin *E. coli* olduğu da doğrulanmıştır (Tekiner İH, 2016).

Hatay ve çevresinde bulunan; 11 farklı ticari broyler çiftliğinden toplanan 220 kloakal swap'ta *Campylobacter spp.* sıklığının belirlenmesi hedeflenmiştir. Tüm sürüler *Campylobacter spp.* yönünden pozitif olarak gözlemlenmiş olup, pozitif numune sayısı 218 olarak tespit edilmiştir. Tüm izolatlar eritromisin, kloramfenikol ve gentamisine karşı duyarlı bulmuş olup; sırasıyla izolatların tamamı % 100

oranında nalidiksik asite, % 86,6 oranında siprofloksasine karşı direnç gözlenmiştir. Çalışmada tetrasikline dirençli olan 96 izolatın 85'inde tetO geninin mevcut olduğu tespit edilmiş olup 4 izolat tetO geni taşımasına rağmen tetrasikline duyarlı olduğu görülmüştür. Çalışmamızda ise *E. coli* izolatlarının hepsinin duyarlı olduğu antibiyotik bulunmamaktadır. Ancak tüm izolatlar % 100 oranında tetrasikline dirençli olarak gözlemlenmiştir (Aslantaş, 2017). Ayrıca çalışmamızda S49 nolu izolat E-Test'te meropeneme duyarlı olduğu için karbapenemaz açısından negatif değerlendirmiş ancak yapılan Klasik PCR'da karbapenemaz genlerinin hepsini taşıdığı ve karbapenemaz açısından pozitif olduğu saptanmıştır.

Süt sığırlarından alınan 172; besi sığırlarından alınan 140 rektal sürüntü örneklerinde GSβL, Amp-c üreten *E. coli* özelliklerinin araştırılması hedeflenmiştir. 312 adet örnekten 26 tanesinde GSβL, Amp-c üreten *E. coli* varlığı tespit edilmiş olup; bu oran % 8,3 olarak hesaplanmıştır. Pozitif olan suşlar üzerinde yapılan PCR çalışmasında 12 adet bla_{CTX-M-15} primeri en yüksek oranda saptanan primer olmuştur. Bu primer CTX-M genini ifade etmekte olup paralel olarak çalışmamızda da en çok saptanan genidir (Aslantaş, Elmacioğlu ve Yılmaz; 2017). Bu çalışmada tüm izolatlar imipenem duyarlı olmasıyla çalışmamızla paralellik göstermiştir.

Beta laktamaz üreten *E. coli* varlığını test etmek amacıyla yapılan bir çalışmada 100 tavuk eti, 100 sığır eti numunesi dondurulmuş veya soğutulmuş olarak marketlerden toplanmıştır. 100 tavuk eti numunesinden 82'sinin sefotaksime karşı dirençli olan *E. coli* taşıdığı ve GSβL üreticisi de olduğu belirlenmiştir. Beta laktamaz genleri açısından da 82 izolatın 81'inde pozitiflik gözlenmiştir. CTX-M geni ile GSβL varlığı arasında pozitif bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (Önen, Aslantaş, Yılmaz ve Kürekci, 2015). Bu çalışmada tüm izolatların imipeneme duyarlı olması; çalışmamızda ise tüm izolatların meropeneme duyarlı olması da karbapenemaz açısından izolatların negatif olduğunun göstergesidir. Diğer taraftan çalışmamızda Klasik PCR ile saptanan GSβL pozitif olan izolatlarda CTX-M-1 veya CTX-M-9 genlerinin var olmasıyla da; bu genlerin varlığında GSβL açısından izolatların pozitif olarak değerlendirilebileceği bir başka deyişle aralarında pozitif bir korelasyonun olduğu doğrulanmıştır.

Farklı bir çalışmada *Staphylococcus aureus*'un antimikrobiyal direnç mekanizması araştırılmıştır. Klinik örneklerde elde edilen 97 adet *Staphylococcus aureus* izolatu kullanılmıştır. Yapılan antimikrobiyal direnç testinde 97 izolatu 9 tanesinde; oran ile açıklayacak olursak izolatların % 9,3'ünde kullanılan tüm antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık gözlenmiştir (Yılmaz ve Aslantaş; 2017).

Ticari bir kanatlı çiftliği hastalık teşhis laboratuvarında bulunan 16-41 günlük yaşta kolibasilloz taşıyan 135 broylerin iç organları alınmıştır. 112 meteryalin *E. coli* etkenini taşıdığı moleküler yöntemlerle doğrulanmıştır. İzolatlar 7 farklı antibiyotiğe karşı disk diffüzyon testi ile direnç ölçümüne tabi tutulmuştur. Çalışmada izolatların % 64,3'ü çoklu ilaç direnci göstermiştir. Ancak çoklu ilaç direncine neden olan integronlar, 112 izolatu % 52,7'inde tespit edilmiş ancak çoklu ilaç direnci oranıyla paralellik göstermemiştir (Eğilmez ve Türkyılmaz; 2021). Çalışmamızda ise izolatların tamamında çoklu ilaç direnci mevcuttur.

Ticari broyler çiftliğinden artrit olduğu bilinen, yaşları 16-41 gün arasında değişen Ross 308, 152 adet broylerden sinovial sıvı örnekleri alınmıştır. Artritli hayvanlar diğer hayvanlardan farklı bölmelerde tutulmuş ve 40 günlük yaşta kesime sevk edilmişlerdir. Kesim öncesi ölüm durumunda ise nekropsi yapılarak örnekler alınmıştır. Aseptik koşullar altında swap yardımıyla örnekler alınmıştır. Gram pozitif ve gram negatif aerobik bakteriler identifiye edilmiş olup 152 adet örnekten 99 tanesinde bakteriyel üreme görülmüş olup 112 farklı aerobik bakteri identifiye edilmiştir. 52 adet gram negatif, 60 adet gram pozitif özellikle aerobik bakteri saptanmıştır. En çok identifiye edilen gram negatif bakteri *E. coli* olmuştur. Aerobik bakterilerden antibiyotik dirençliliği en fazla olan mikroorganizmada gram negatif özellik gösteren *E. coli* olmuştur (Sayın ve Türkyılmaz; 2020). Çalışmamızda ise *E. coli* identifikasyon oranı % 7 ile söz konusu çalışmadan daha az bulunmuştur.

5. SONUÇLAR

Kolay erişilebilir protein kaynağı olarak tercih edilen kanatlı etleri, antimikrobiyal direnç genleri taşımakta, bu genlerin insanlara aktarabilme özelliğinin olması yönüyle halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de kanatlı etinde yüksek oranda multiple dirençlilik mevcuttur. Multiple direnç yanı sıra fenotipik ve genotipik olarak GS β L, Amp-C ve karbapenemaz aktivitesine sahip olan *E. coli* izolatları da tespit edilmiştir. Direnç genleri tek başına incelendiğinde diğer ülkelerle uyumlu olarak en yüksek prevalansın CTX-M-1 ve SHV genine ait olduğu saptanmıştır. GS β L, Amp-C ve karbapenemaz aktivitesi yönünden kanatlı etlerinin izlenmesi ve kontrol programlarının uygulanması antibiyotik dirençliliğinin takibi açısından gereklidir.

KAYNAKLAR

- Abbasoğlu U, Çevikbaş A. (2011) Farmasötik Mikrobiyoloji. 1. baskı. Ankara: Efil Yayınevi, s.527-531,
- Acar JF, Goldstein FW. (1997) Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. Clin Infect Dis; 24(Suppl 1):S567-73
- Anonim; Erişim Adres: <http://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html#what-are-shiga-toxin> Erişim Tarih: 06.11.2015
- Anonym. 2004. Antibiotic Resistance. GAO-04-490 Antibiotic Use in Animals
- Arslan D. (2008) İshal oluşturan Escherichia coli enfeksiyonları, epidemiyoloji, klinik, tedavi. Ankem Derg, 22 (Ek 2):192-196.
- Aslantaş Ö. (2017) Genotypic, antimicrobial resistance and virulence profiles of thermophilic campylobacter isolats in broilers. Kafkas Univ Vet Fak Derg 23 (4): 547-554.
- Aslantaş Ö, Elmacioğlu S, Yılmaz EŞ. (2017) Prevalence and characterization of ESBL- and AmpC-producing Escherichia coli from cattle. Kafkas Univ Vet Fak Derg 23 (1): 63-67.
- Ayliffe GA. (1997) The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clin Infect Dis; 24(Suppl 1):S74-9
- Babacan O, Karadeniz H. (2019) Çiğ tavuk etlerinden izole edilen Salmonellaspp. suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi; 90 (2): 105-114.
- Barton MD, Pratt R, Hert WS. (2003) Communicable Diseases Intelligence Supplement on Antimicrobial Resistance in Australia, Vol 27, www.health.gov.au.
- Başaran S, Korten V (2010). Doripenem: Klinik Uygulamada Yeni Bir Karbapenem. Derleme. Klimik Dergisi.
- Bergey's manual of systematic bacteriology. (1984) Ørskov F. In N.R. Krieg. and Holt J.G. (eds): vol 1., Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A. 420-423.
- Brenner DJ, Fanning GR, Miklos GV, Steigerwalt AG. (1973) Polynucleotide sequence relatedness among Shigella species, Int.J.Syst.Bacteriol 23: 1-7.
- Bush K, Jacoby G, Medeiros AA. (1995) A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 39(6), 1211–1233.
- Bush K, Jacoby GA. (2010) Updated functional classification of β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 54: 969–976.
- Bush K. (1998).Metallo-beta-lactamases: a class apart. Clin Infect Dis; Suppl 1: S48-53.

Buyukcangaz Esra, Logue CM, Barbieri NL, Nolan L. (2019) Kümes Hayvanlarında Avian Patojenik *E. coli* (APEC)' in Tespiti. 5. International Poultry Meat Congress p: 72-77.

Cantón R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. (2006) *Curr Opin Microbiol* ;9:466–75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2006.08.011>.

Caprioli A, Morabito S, Brugere H, Oswald E. (2005) Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet. Res.* 36: 289-311.

Carlton LG, John FP, Glenn S, Charles OT. (2010) Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, p.267 – 307.

CDC, Centers of Disease Control and Prevention (2021). <https://www.cdc.gov/hai/organisms/ESBL.html>.

Dallenne C, Costa A, Decre D, Favier C and Arlet G. (2010) Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 490–495.

Davies J. (1994) Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 264:375-82

Demby JH, Cunningham FE. (1986) Factors Affecting Composition of Chicken Meat. A Literature Review. *World Poult Sci J.* 36:- 25-67.

Dho M, Lafont JP. (1984) Adhesive properties and iron uptake abilities in *E. coli* lethal and non-lethal for chicks. *Avian Dis.* 28: 1016-1025.

Diene S, Rolain JM. (2014). Carbapenemase Genes and Genetic Platforms in Gram-Negative Bacilli: Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* And *Acinetobacter* Species. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(9), 831-838.

Eğilmez T, Türkylmaz S. (2021) Investigation of Antimicrobial Resistance and Integron Profiles of Poultry Pathogenic *Escherichia coli*. *Israel Journal of Veterinary Medicine* Vol. 76; 1.

Eliopoulos GM. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial drugs. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow N, eds. (1992) *Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders Co, 280-6

Elitok B, Bingüler N. (2018) Kanatlılarda *E. coli* Enfeksiyonları. *Derleme. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*.

EU Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance External Quality Assurance System (EQAS) 2021. https://www.eurl-ar.eu/CustomerData/Files/Folders/23-eqas/597_protocol-eqas-matrix-bilag-4d-2021.pdf

EURL-AR. https://www.eurl-ar.eu/CustomerData/Files/Folders/25-resourcer/361_ab-biodisk-conf-of-esbl.pdf. Cefotaxime/cefotaxime + clavulanic acid, Ceftazidime/ceftazidime + clavulanic acid, Cefepime/cefepime + clavulanic acid Guidelines for interpretation of E test ESBL

Fadare FK, Okoh AI. (2021) Distribution and molecular characterization of ESBL, β -lactamases, and non- β -lactam encoding genes in Enterobacteriaceae isolated from hospital wastewater in Eastern Cape Province, South Africa *PLoS One* (16)7: e0254753.

Fadare FT, Adefisoye MA, Okoh AI. (2020) Occurrence, identification and antibiogram signatures of selected Enterobacteriaceae from Tsomo and Tyhume rivers in the Eastern Cape Province, Republic of South Africa. *PLoS One*. 2020; 2020.08.11.246025

Falgenhauer L, Imırzalıoğlu C, Oppong K, Akenten CW, Hogan B, Krumkap R, Poppert S, Levermann V, Schwengers O, Sarpong N, Owusu-Dabo E, May J, Eibach D. (2019) Detection and Characterization of ESBL-Producing *Escherichia coli* From Humans and Poultry in Ghana. *Front. Microbiol.*

Gold HS, Moellering RC Jr. (1996) Antimicrobial drug resistance. *N Engl J Med* ; 335:1445-53

Gongora CE. (2017) Tavuk Etinde Antibiyotik Dirençli Bakteri Kontaminasyonu İnsan Sağlığı İçin Tehlikeli midir? Nasıl Üstesinden Gelinir? 4. International Poultry Meat Congress p:77-79.

Görgeç S. (2012). *Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten Nozokomiyal Escherichia Coli İzolatlarında Beta-Laktamaz Genleri Ve Klonal İlişkinin Araştırılması*. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi.

Halkman AK, Noveir MR, Doğan HB. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi. Orkim Ltd Şti. Ankara ; 2-35

Hauskey PM. (1997) Resistance to carbapenems. *J Med Microbiol*; 46:451-4

Huang DB, Mohanty A, Dupont HL, Okhuysen PC, Chiang T. (2006) A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol*; 55: 1303-1311.

Huovinen P. (1997) Increases in rates of resistance to trimethoprim. *Clin Infect Dis* 24(Suppl 1): S636

İzgür, M. (2002) Koli Enfeksiyonları. In: Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Ed: M. İzgür, M. Akan: Medisan Yayınevi, Ankara. pp: 55-59.

Jacoby GA (2020). Amp-c β Laktamases. *American Society for Microbiology Journals Clinical Microbiology Reviews* Vol:22 No:1.

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

Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. (1995) *Medical Microbiology*. East Norwalk, CT: Appleton & Lange, 137-67

Jones RN, Baquero F, Privitera G, et al. (1997) Inducible β -lactamase-mediated resistance to third generation cephalosporins. *Clin Microbiol Infect*; 3(Suppl 1): S7-20

Kamburoğlu, A. (2011). *Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üreten Escherichia Coli Ve Klebsiella Spp. İzolatlarında Beta Laktamaz Direncinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Araştırılması*. MSc, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Karaaslan A, Soysal A. (2017) Karbapenemazlar. *Journal of Pediatric Infection (Review)* 2017; 11: 23-28.

Kauffmann F, Vahlne G. (1945) Ueber die Bedeutung des serologischen Formenwechsels für die Bakteriophagenwirkung in der Coli-Gruppe. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 22: 119-137.

Keskin H. (2019) Kıyma, et, tavuk ve peynir örneklerinden izole edilen *Escherichia Coli*'nin bazı antimikrobiyal direnç ve virülans genlerinin pcr ile tespiti. Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Khachatourians GG. (1998) Agricultural Use of Antibiotics and the Evolution and Transfer of Antibiotic-Resistance Bacteria. *Can Medic Assoc. J.* 159. 1129-1136..

- Korhonen, J. (2010) Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria. Publication of the University of Eastern Finland, dissertations in Forestry and Natural Sciences, Dept. of Biosciences.
- Leclercq R. (2002) Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. *Clinical Infectious Diseases*, 34(4), 482–492.
- Levin BR, Lipsitch M, Perrot V, et al. (1997) The population genetics of antibiotic resistance. *Clin Infect Dis* 24(Suppl 1): S9- 16
- Livermore DM. (1997) Beta-lactamases: Quantity and resistance, *Clin Microbiol Infect*;3(4):S10-9
- Mahmud ZH, KabirMH, Ali S, Moniruzzaman M, Imran KM, Nafiz TN, Islam MS, Hussain A, Ibna Hakim SA, Worth M, Ahmed D, Johnston D and N Ahmed (2020). Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Drinking Water Samples From a Forcibly Displaced, Densely Populated Community Setting in Bangladesh. *Frontiers in Public Health*, Vol: 8, Article 228.
- Mathers A, Peirano G, Pitout J. (2015) The Role of Epidemic Resistance Plasmids and International High-Risk Clones in the Spread of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3).
- Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. (1995) Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fourth ed. New York: Churchill Livingstone, 212-25
- Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. (2012) *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiol*; 7: 887–902.
- Moellering RC Jr. (1998) Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis*; 26:1196-9
- Moulin-Schoule M, Répérant M, Laurent S, Brée A, Mignon-Gasteau S, Germon P, Rasschaert D, Schouler C. (2007) Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. *J. Clin. Microbiol.* 45: 3366-3376
- Nagy B, Fekete PZ. (2005) Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int J Med Microbiol*; 295(6- 7):443-54.
- Nataro JP, Kaper JB, Robins BR, Prado V, Levine MM. (1987) Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells, *Pediatric Infectious Diseases Journal* 6: 829-831.
- Nataro JP, Kaper JB. (1998) Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*; 11: 142-201.
- Nikaido H. (1994) Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* 264:382-8
- Njage PMK, Buys EM. (2015) Pathogenic and commensal *Escherichiacoli* from irrigation water show potential in transmission of extended spectrum and AmpC β -lactamases determinants to isolates from lettuce. *Microb Biotechnol*; 8: 462–473.
- Nolan L, Barnes KH, Jean Pirre V, Abdul-Aziz T, Louge C M.(2013) Colibacillosis. In: Swayne, D., E. (Eds.) *Diseases of Poultry* 13 th Edition. Blackwell Publishing. John WileyandSons, Ames, Iowa, pp 751-785.
- Nordmann P, Naas T, Poirel L. (2011) Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 17: 1791-8.
- Omerovic M, Müştak K, Kaya İ. (2017) *Escherichia coli* Patotiplerinin Virölens Faktörleri. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 28 (1): 1-6.

Overdevest I, Willemsen I, Eustace MA, Xu L, Hawkey P, Heck M, Savelkoul P, Vandenbroucke-Grauls C, Zwaluw KVD, Huijsdens X, and Kluytmans J. (2011) Extended-Spectrum β -Lactamase Genes of *Escherichia coli* in Chicken Meat and Humans, the Netherlands. *Emerging Infectious Disease* 17(7): 1216–1222.

Owens RC. (2008) Antimicrobial stewardship: concepts and strategies in the 21st century, *Diagn Microbiol Infect Dis* 61(1):110-28. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.02.012> PMID:18384997

Önen SP, Aslantaş Ö, Yılmaz EŞ, Kürekci C. (2015) Prevalence of β -Lactamase Producing *Escherichia coli* from Retail Meat in Turkey. *Journal of Food Science*, 80(9), M2023–M2029.

Öngen B. (2008) *Escherichia coli* ishallerinde laboratuvar tanısı *Aknem Derg*; 22: 197-210.

Özad DA, Saral A. (2018) Investigation of Antibiotic Resistance Genes and Class 1 Integron in Multi-Drug Resistant *P. aeruginosa* and *E. coli* Strains. *Cumhuriyet Science Journal*, 39(4), 1063-1068.

Özpinar H, Tekiner İH, Sarıcı B, Çakmak B, Gökalp F, Özadam A. (2017) Phenotypic characterization of ESBL- and AmpC- type betalactamases in Enterobacteriaceae from chicken meat and dairy products. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 64, 267-272, 2017.

Padhye NV, Doyle MP. (1992) *Escherichia coli* O157:H7: Epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. *J Food Protect*; 55: 555-565.

Parreira VR, Gyles CL. (2003) A novel pathogenicity island integrated adjacent to the thrW tRNA gene of avian pathogenic *Escherichia coli* encodes a vacuolating autotransporter toxin. *Infect. Immun.* 64:3118-3126.

Paterson DL, Bonomo RA. (2005) Extended spectrum beta-lactamases: A clinical update, *Clin Microbiol Rev* 18(4):657-86.

Paterson DL, Doi Y. (2007) A step closer to extreme drug resistance (XDR) in gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*; 45: 1179-81.

Pehlivanoglu, F. (2019) Gram Negatif Bakterilerin Beta-Laktamaz Enzim Çeşitliliği ve Türkiye'deki Hayvan Orjinli Bakterilerdeki Durum. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.*, 33(2), 113-122.

Philippon A, Arlet E, Lagrange PH. (1994) Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 13(Suppl 1):17-9

Protocol for selective isolation of presumptive ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing *Escherichia coli* from meat and caecal samples https://www.eurl-ar.eu/CustomerData/Files/Folders/23-eqas/597_protocol-eqas-matrix-bilag-4d-2021.pdf

Qi C, Pilla V, Yu J, Reed K. (2010). Changing Prevalence Of *Escherichia Coli* With Ctx-M-Type Extended-Spectrum B-Lactamases In Outpatient Urinary *E. Coli* Between 2003 And 2008. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 67, 87-91.

Rasmussen BA, Bush K. (1997) Carbapenem-hydrolyzing β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*;41: 223-32.

Reich F, Atanassova V, Klein G (2013). Extended-Spectrum β -Lactamase– and AmpC-Producing Enterobacteria in Healthy Broiler Chickens, Germany *Emerg Infect Dis.* Aug; 19(8): 1253–1259.

Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. (1999) Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 2823–30

- Ross JI, Eady EA, Cove JH, Cunliffe WJ, Baumberg S, Wootton JC. (1990) Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the ATP-binding transport super-gene family. *Mol Microbiol* 4: 1207–14.
- Rowe B, Ward LR, Threlfall EJ. (1994) Multidrug-resistant *Salmonella typhi*: a worldwide epidemic. *Clin Infect Dis* 24(Suppl 1):S106-9
- Rupp M, Fey P. (2003). Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing Enterobacteriaceae. *Drugs*, 63(4)
- Sahm DF, Gilmore MS. (1994) Transferability and genetic relatedness of high-level gentamicin resistance among enterococci. *Antimicrob Agents Chemother*; 38: 1194-6
- Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA. (1997) Problems with detection of beta-lactam resistance among non-fastidious gram-negative bacilli, *Infect Dis Clin North Am*;7(2):411-23.
- Saran B ve Karahan ZC. (2010) Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış. *Türk Üroloji Semineri*; 1: 216-220.
- Sayın N ve Türktılmaz S. (2020) Investigation of Antimicrobial Resistance Status of Aerobic Bacteria Causing Arthritis in Broilers. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 2020; 153-160
- Scientific Opinion on Carbapenem resistance in food animal ecosystems. *EFSA Journal* 2013; 11(12):3501 [70 pp.]. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3501.
- Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal* 2011;9(8):2322 [95 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011.2322.
- Spratt BG. (1994) Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 264:388-93
- Stuart JC, Munckhof TVD, Voets G, Scharringa J, Fluit A, Leverstein-Van Hall M. (2012) Comparison of ESBL contamination in organic and conventional retail chicken meat. *International Journal of Food Microbiology* Volume 154, Issue 3, Pages 212-214.
- Tekiner İH. (2016) Gıdalardan izole edilen enterobacteriaceae suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların moleküler yöntemle araştırılması. *İstanbul Aydın Üniversitesi Doktora Tezi*.
- Tenover FC, Hugles JM. (1996) The challenges of emerging infectious diseases development and spread of multiply resistant bacterial pathogens. *JAMA* 275:300-4
- Theuretzbacher U. (2013) Global antibacterial resistance: The never-ending story. Review. *Journal of Global Antibacterial Resistance* 1; (63-69).
- Thomson KS. Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues. (2010) *J Clin Microbiol*. 48: 1019–1025.
- Töreci K, Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Escherichia türleri. Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri*, 2002; cilt 2, ss 1564-1574.
- Vandekerckhove D. (2014) Colibacillosis in BatteryCaged Layer Hens: Clinical and Bacteriological Characteristics, and Risk Factor Analysis. University of Gante. http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/000/826/734/RUG010008_26734_2010_0001_AC.pdf.
- Vanessa S, Carlyn JH. (2015) Enterohemorrhagic *E. coli* and Other Shiga Toxin – Producing *E. coli*, p.23.

Vester B, Douthwaite S. (2001) Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA. Antimicrob Agents Chemother 45:1–12

Walther-Rasmussen J, Høiby N. (2006) OXA-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother; 57: 373-83

Wasteson Y. (2001) Zoonotic Escherichia coli. Acta Vet Scand. 95: 79-84.

Weisblum B. (1995) Erythromycin resistance by ribosome modification. Antimicrob Agents Chemother 39:577–85.

Willke A. (2008) Escherichia coli ishallerinde etiyoloji ve patogenezi. Ankem Derg; 22(Ek 2):188-191.

World Health Organization - Critically Important Antimicrobials for Human Medicine. 5th Revision (2016) Ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use.

Yalçın İH. (2018) Penisilinler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi. <http://www.esisresearch.org/Uploads/Documents/penisilinler-lisans-2018.pdf>.

Yavuz B. (2011) *Klinik Örneklerden İzole Edilen Escherichia Coli Kökenlerinde Ctx-M Beta-Laktamaz Üretimini Fenotipik Ve Genotipik Olarak Saptanması*. Yüksek Lisans Tezi, Mikrobiyoloji (Tıp) Anabilim Dalı.

Yılmaz EŞ, Aslantaş Ö. (2017) Antimicrobial resistance and underlying mechanism in staphylococcus aureus. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine Volume 10, Issue 11, November 2017, Pages 1059-1064

Yüce A. (2001) Antimikrobiyal İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik Dergisi Cilt:14, Sayı:2, sf:44-46.

Zanella A. (2007). Poultry Disease Manual Characteristics and Control of Infections. FATRO. 56-57.

Zhao S, Maurer JJ, Hubert S, De Villena JF, McDermott PF, Meng J, Ayers S, English L, White DG. (2005) Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic Escherichia coli isolates. Veterinary Microbiology 107, pp 215-224.