



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TARIMSAL SU KAYNAKLARINDAN İZOLE
EDİLEN *Escherichia coli* SUŞLARININ
ANTİMİKROBİYAL DİRENÇLİLİKLERİNİN
ve PLAZMİT İÇERİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Didem TAŞDELEN KARASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz-2023
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL SU KAYNAKLARINDAN İZOLE
EDİLEN *Escherichia coli* SUŞLARININ
ANTİMİKROBİYAL DİRENÇLİLİKLERİNİN
ve PLAZMİT İÇERİKLERİNİN
BELİRLENMESİ

Didem TAŞDELEN KARASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ

Temmuz-2023
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL ve ONAYI

Didem TAŞDELEN KARASLAN tarafından hazırlanan “Tarımsal Su Kaynaklarında İzole Edilen *Escherichia Coli* Suşlarının Antimikrobiyal Dirençliliklerinin ve Plazmit İçeriklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Doç. Dr. Sedat BOZARI
MAUN, Fen-Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

.....

Danışman

Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ
Muş Alparslan Üniversitesi,
Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu,
Gıda İşleme Bölümü

.....

Üye

Prof Dr. Özlem OSMANAĞAOĞLU
Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi
Biyoloji Bölümü

.....

Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu/...../..... Tarih ve/..... nolu kararı
ile onaylanmıştır.

.....

FBE Müdürü

Bu tez çalışması MAUN Teknoloji Araştırma ve Proje Koordinasyon Birimi (TAPKOB) tarafından BAP-21-TBMY-4901-05 numaralı proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Didem TAŞDELEN KARASLAN

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARIMSAL SU KAYNAKLARINDAN İZOLE EDİLEN *Escherichia coli* SUŞLARININ ANTİMİKROBİYAL DİRENÇLİLİKLERİNİN ve PLAZMİT İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Didem TAŞDELEN KARASLAN

Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ

Bu çalışmanın amacı, Muş ilinde tarımsal sulamada kullanılan dört farklı su kaynağında *Escherichia coli* varlığının araştırılması ve suşlarının antimikrobiyal dirençliliklerinin ve plazmit içeriklerinin belirlenmesidir. Bu amaç doğrultusunda Murat Nehri (M), Karasu Çayı (K), Gölet Yurt (GY) ve Gölet Balık (GB) olarak belirlenen tarımsal sulama kaynağı olarak kullanılan su kaynaklarından “Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Numune Alma ve Analizi Metodları Tebliği” ne göre toplam 54 su numunesi alındı. Her bir su numunesi steril membran filtrasyon cihazında 0,45 µm’ lik gözenek çaplı membran filtreden süzdürüldü, steril pens ile filtre kağıdı alınarak Chromogenic Coliform Agar (CCA) üzerine yerleştirildi. Petriler 37°C’ de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda koyu mavi-mor renkteki kolonilerden Eosine Methylene Blue Agar (EMB) besiyerine çizgi ekim yöntemi ile aktırıldı ve 35°C’ de 24 saat inkübe edildi. Elde edilen saf kolonilerin *E. coli* olduğunu PZR yöntemi ile doğrulamak için *uidA* gen bölgesine spesifik olarak tasarlanan UAL-1939 (5’-TATGGAATTTTCGCCGATTTT-3’) ve UAR-2105 (5’-TGTTTGCCTCCCTGCTGCGG-3’) primerleri kullanıldı. Antibiyotik dirençliliğini belirlemek için izole edilen *E. coli* suşları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) belirtilen disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. Çalışmamızda Ampisilin (AM, 10 µg), Gentamisin (CN, 10 µg), Kloramfenikol (C, 30 µg), Siprofloksasin (CIP, 5 µg), Eritromisin (E, 15 µg), Kanamisin (K, 30 µg), Rifampisin (RA, 5 µg), Sülfametoksazol (SMZ, 300 µg), Tetrasiklin (TE, 30 µg) ve Vankomisin (VA, 30 µg) antibiyotik diskleri kullanıldı. İzole edilen *E. coli* suşlarına ait plazmit içerikleri belirlendi. Ayrıca, izole edilen *E. coli* suşlarına ait DNA’lar 27 RAPD primeri kullanılarak akrabalık ilişkileri incelendi. Kullanılan RAPD primerlerinden OPA8 (5’-CCTGGGTGGA-3’), OPA29 (5’-AGGGCGTAAG-3’), OPA30 (5’-AAAACCGGGC-3’) ve OPA1247 (5’-AAGAGCCCGT-3’) RAPD primerlerinin kullanımı ile en uygun sonuçlar elde edildi. 54 su örneğinden izole edilen 34 adet *E. coli* suşu kullanılan yöntemlerle doğrulanmıştır. Bu suşların eritromisin ve rifanmisine karşı dirençli oldukları belirlendi. Yapılan RAPD analizi ve plazmit içerik analizleri sonucunda aynı bölgeden izole edilen suşların yüksek benzerlik özelliği gösterdiği tespit edildi. Sularda *E. coli*’ nin bulunması halk sağlığı açısından ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Bu sebeple su ekosistemlerindeki *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi büyük önem arz etmektedir.

2023, 82 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik, antibiyotik direnç, *E.coli*, plazmid

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND PLASMID CONTENT OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED IN AGRICULTURAL WATER RESOURCES

Didem TAŞDELEN KARASLAN

Muş Alparslan University
Natural and Applied Science
Department of Biology

Advisor: Assist. Prof. Harun ÖNLÜ

This study aims to investigate the presence of *Escherichia coli* in four different water sources used for agricultural irrigation in Muş (province) and to determine the antimicrobial resistance and plasmid content of the strains. For this purpose, according to the “Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Numune Alma ve Analizi Metodları Tebliği”, a total of 54 water samples were taken from the Murat River (M), Karasu Creek (K), Pond Yurt (GY) and Pond Fish (GB) water sources used as agricultural irrigation sources. Each water sample was filtered through a membrane filter with a pore diameter of 0.45 µm in a sterile membrane filtration device, filter paper was taken with sterile forceps and placed on Chromogenic Coliform Agar (CCA). The petri dishes were incubated at 37 °C for 24 hours. At the end of incubation, dark blue-purple colonies were transferred to Eosine Methylene Blue Agar (EMB) medium by streak culture method and incubated at 35 °C for 24 hours. Primers UAL-1939 (5'-TATGGAATTCGCCGATTTTT-3') and UAR-2105 (5'-TGTTTGCCTCCTGCTGCTGCGG-3') designed specifically for the *uidA* gene region were used to confirm by PCR method that the pure colonies obtained were *E. coli*. To determine antibiotic resistance, the isolated *E. coli* strains were performed according to the disc diffusion method specified by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). In our study, Ampicillin (AM, 10 µg), Gentamicin (CN, 10 µg), Chloramphenicol (C, 30 µg), Ciprofloxacin (CIP, 5 µg), Erythromycin (E, 15 µg), Kanamycin (K, 30 µg), Rifampicin (RA, 5 µg), Sulfamethoxazole (SMZ, 300 µg), Tetracycline (TE, 30 µg) and Vancomycin (VA, 30 µg) antibiotic discs were used. The plasmid contents of the isolated *E. coli* strains were determined. In addition, the DNAs belonging to the isolated *E. coli* strains were analyzed for relationships by using 27 RAPD primers. Optimal results were obtained with the use of OPA8 (5'-CCTGGGTGGA-3'), OPA29 (5'-AGGGCGTAAG-3'), OPA30 (5'-AAAACCGGGC-3') and OPA1247 (5'-AAGAGCCCGT-3') RAPD primers from the RAPD primers used. 34 *E. coli* strains isolated from 54 water samples were confirmed by the methods used. It was determined that these strains were resistant to erythromycin and rifampicin. As a result of RAPD analysis and plasmid content analysis, it was determined that the strains isolated from the same region showed high similarity. The presence of *E. coli* in waters poses a serious danger to public health. For this reason, it is of great importance to determine the antibiotic resistance profiles of *E. coli* strains in aquatic ecosystems.

2023, 82 Pages

Keywords: Antibiotic, antibiotic resistance, *E.coli*, plasmid

TEŞEKKÜR

Araştırma sürecinde değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ 'ye desteklerini benden esirgemedikleri, görüş ve önerileriyle araştırmamın gelişmesine katkıda buldukları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı değerli hocalarım Doç. Dr. Sedat BOZARI ve Öğr. Gör. Sefa IŞIK'a teşekkürlerimi sunarım.

İstanbul 3 Nolu Halk Sağlığı Laboratuvarı Sorumlusu Uz. Dr. Abdullah ELÇİ ve birim arkadaşlarım Evrim MERSİN ve Ahmet ELMALI 'ya tez yazım sürecinde yardımları ve destekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın başladığı ilk günden itibaren maddi manevi her türlü yardım ve desteğini bir an olsun esirgemeyen gerek çalışmaların yürütülmesi gerekse tezimin yazım aşamasında büyük bir sabırla bana katlanma başarısını gösteren, moral kaynağım sevgili eşim Uğur KARASLAN 'a; bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan ve her zaman yanımda ve destekçim olan sevgili aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Didem TAŞDELEN KARASLAN
MUŞ-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1 Antibiyotikler	4
2.1.1 Antibiyotiklerin Keşif Süreci	5
2.1.2 Antibiyotik Direnç	9
2.1.3 Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	9
2.1.3.1 İlaç İnaktivasyonu veya Modifikasyonu	9
2.1.3.2 Hedef Alanın Değiştirilmesi	10
2.1.3.3 Metabolik Yolun Değiştirilmesi.....	10
2.1.3.4 Azaltılmış İlaç Birikimi.....	10
2.1.4 Antibiyotiklerin Etki Mekanizması.....	12
2.1.5 Sularda Antibiyotikler	14
2.1.6 Antibiyotiğe Dirençli Mikroorganizmalar	16
2.2 <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>).....	19
2.2.1 Genel Özellikleri	19
2.2.2 Morfolojisi ve Fizyolojisi.....	20
2.2.2.1 Morfolojisi	20
2.2.2.2 Fizyolojisi.....	20
2.2.3 Genetik Özellikleri	20
2.2.4 Ekolojik Rolü	21
2.2.5 Patojenik Suşlar.....	22
2.2.6 Su Ortamında <i>E. Coli</i>	22
2.2.7 <i>E. coli</i> 'de Antimikrobiyal Direnç.....	24
2.2.7.1 Beta-Laktam antibiyotikler ve direnç mekanizmaları.....	25
2.2.7.2 Aminoglikozid Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları	27
2.2.7.3 Kinolon ve Florokinolon Antibiyotikleri ve Direnç Mekanizmaları	28
2.2.7.4 Makrolid Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları	29
2.2.7.5 Tetrasiklin Antibiyotikleri ve Direnç Mekanizmaları.....	30
2.2.7.6 Polimiksin Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları.....	31
2.2.7.7 Sülfonamid ve Trimetoprim Antibiyotikleri ve Direnç Mekanizmaları	32
3. MATERYAL ve YÖNTEM	32

3.1 Su Örneklerinin Alınması	32
3.2 Su Örneklerinin Filtrasyonu	32
3.3 Koloni PZR	33
3.4 Agaroz Jel Hazırlanışı ve Elektroforez	33
3.5 İzole Edilen Suşlarda <i>uidA</i> Gen Bölgesinin Taranması.....	34
3.6 RAPD (Randomly Amplified Polimorphic DNAs) PZR Analizi	35
3.7 Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi	37
3.8 Plazmit DNA İzolasyonu	38
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA	40
4.1 Farklı Kaynaklardan <i>E. coli</i> İzolasyonu.....	40
4.2 Saf Koloni Elde Etme.....	41
4.3 <i>uidA</i> Gen Bölgesinin Taranması.....	42
4.4 Elde Edilen Suşların Antibiyotik Dirençlilik Testi	44
4.5 Suşların RAPD PZR Profilleri	48
4.6 Plazmit İzolasyonu	57
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	60
5.1 Sonuçlar	60
5.2 Öneriler	60
KAYNAKLAR	61
EKLER	72
ÖZGEÇMİŞ	82

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

α	: Alfa
β	: Beta
%	: Yüzde
+	: Artı
-	: Eksi
μm	: Mikrometre
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
nm	: Nanometre
bp	: Baz pair (baz çifti)
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat (Celcius) derece
I	: Antibiyotiğe karşı orta duyarlı
R	: Antibiyotiğe karşı dirençli
S	: Antibiyotiğe karşı duyarlı
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
\leq	: Küçük eşit
\geq	: Büyük eşit
\sim	: Yaklaşık olarak

Kısaltmalar

ADB	: Antibiyotik Dirençli Bakteri
ADG	: Antibiyotik Direnç Geni
AM	: Ampisilin
AMD	: Antimikrobiyal Direnç
C	: Kloramfenikol
CCA	: Chromogenic Coliform Agar
CIP	: Siprofloksasin
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CMS	: Kolistin Metansülfat, Kolistin Sülfonil Metat, Penta-Sodyum Kolistimetansülfat
CN	: Gentamisin
ÇİD	: Çoklu İlaç Direnci
DHPS	: Dihipteroat Sentazın
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
E	: Eritromisin
EAEC	: Enteroagregatif <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvasif <i>E. coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EMB	: Eosine Methylene Blue Agar
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
EtBr	: Etidyum Bromit

GB	:	Gölet Balık
GSBL	:	Geniş Spektrumlu β -laktamaz
GTE	:	Glikoz/Tris/EDTA
GY	:	Gölet Yurt
HIV	:	Human Immunodeficiency
HSS	:	Yüksek Tuz Solüsyonu
K	:	Karasu Çayı
K	:	Kanamisin
KDB	:	Karpaneme Dirençli Bakteriler
LB	:	Luria Bertani
LPS	:	Lipopolisakkaridin
M	:	Murat Nehri
MRSA	:	Metisiline Dirençli <i>Stephylococcus aureus</i>
MGE	:	Mobil Genetik Eleman
PAKD	:	Plazmid Aracılı Kinolon Direnci
PBP	:	Penisilin Bağlayan Protein
PZR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RA	:	Rifampisin
RAPD	:	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
rRNA	:	Ribozomal Ribonükleik Asit
SMZ	:	Sülfametoksazol
ST	:	Shiga Toksin
STE	:	Sakkaroz/Tris/EDTA
T	:	Tetrasiklin
TSA	:	Tryptic Soy Agar
VA	:	Vankomisin
VRE	:	Vankomisine Dirençli <i>Entrecoccus</i>
YGT	:	Yatay Gen Transferi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 Yeni antibiyotik sınıflarının klinikte kullanımını gösteren zaman çizelgesi....	4
Şekil 2. 2 Klinik olarak ilgili antibiyotik sınıflarının çoğu doğal ürünlerden elde edilir .	5
Şekil 2. 3 Antibiyotik direnç mekanizmaları.....	10
Şekil 2. 4 Bakterilerde antibiyotik direncinin kazanılması için yatay gen transfer mekanizmaları.....	12
Şekil 2. 5 Antibiyotiklerin etki mekanizması	13
Şekil 2. 6 Antibiyotik kalıntılarının çevreye salınması ve insanların antimikrobiyalere ve antibiyotiğe dirençli bakterilere maruz kalması.....	15
Şekil 3. 1 Membran filtrasyon sistemi ve numuneler	33
Şekil 4.1 <i>uidA</i> gen bölgesinin agaroz jeldeki bant oluşumları	43
Şekil 4. 2 Suşların disk difüzyon testi sonucuna göre oluşturdukları zonlar.....	44
Şekil 4. 3 OPA-8 primeri ile gerçekleştirilen RAPD- PZR sonuçlarının %1'lik agaroz jel görüntüsü	49
Şekil 4. 4 OPA- 29 primeri ile gerçekleştirilen RAPD-PZR sonuçlarının %1'lik agaroz jel görüntüsü	49
Şekil 4. 5 OPA- 30 primeri ile gerçekleştirilen RADP-PZR sonuçlarının %1'lik görüntüleri.....	50
Şekil 4. 6 OPA- 1247 primeri ile gerçekleştirilen RADP-PZR sonuçlarının %1'lik görüntüleri.....	50
Şekil 4. 7 OPA-8 primeri ile oluşturulan dendrogram.....	52
Şekil 4. 8 OPA-29 primeri ile oluşturulan dendrogram.....	53
Şekil 4. 9 OPA-30 primeri ile oluşturulan dendrogram.....	54
Şekil 4. 10 OPA-1247 primeri ile oluşturulan dendrogram.....	55
Şekil 4. 11 Plazmid izolasyonunun agaroz jel görüntüsü	57
Şekil 4. 12 Plazmid profillerine göre akrabalık dendrogramları	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1 Klinik olarak kullanılan tüm antibiyotik sınıfları ve kaynakları	6
Çizelge 2. 2 Yatay gen transferi	12
Çizelge 2. 3 Başlıca antibiyotik sınıfları ve etki mekanizmaları	13
Çizelge 2. 4 İçme suyunda bulunan seçilmiş antibiyotik direnç genleri	16
Çizelge 2. 5 DSÖ'nün antibiyotiğe dirençli bakteri sıralaması.....	19
Çizelge 2. 6 <i>E.coli</i> 'nin Genetik Özellikleri	21
Çizelge 3. 1 <i>uidA</i> gen bölgesi taranma PZR bileşenleri	34
Çizelge 3. 2 <i>uidA</i> gen bölgesi taranma PZR koşulları	35
Çizelge 3. 3 RAPD PZR için denenen primerler	36
Çizelge 3. 4 RAPD PZR bileşenleri	36
Çizelge 3. 5 RAPD PCR reaksiyon koşulları.	37
Çizelge 3. 6 <i>Enterobacteriales</i> için zon çapları yorumlama standartları.....	38
Çizelge 4. 1 Alınan numunelerin membran filtrasyon yöntemi ile tespit edilen toplam <i>E. coli</i> (kob/100 ml) sayıları.....	40
Çizelge 4. 2 EMB besiyerinde üreme gösteren numuneler ve verilen suş numaraları ...	42
Çizelge 4. 3 İzole edilen <i>E. coli</i> suşlarının antibiyotik dirençlilik değerlendirilme sonuçları.....	45
Çizelge 4. 4 RAPD- PZR için yeni numune kodları.....	48
Çizelge 4. 5 Primerlerin RAPD sonucu oluşturdukları toplam polimorfik bant sayıları	51

1. GİRİŞ

Su, paha biçilemez bir doğa kaynağı olmasının yanında yaşam ve canlılar için oldukça önemlidir. Tüm canlıların sağlıklarının korunması için hidrasyon, sanitasyon ihtiyaçları, günlük eşyaları yıkamak için, endüstriyel uygulamalar için bir solvent olarak ve bir termal transfer maddesi olarak gereklidir. Güvenilir su kaynaklarına erişim insan ve hayvan sağlığı üzerinde çok önemli etkiler göstermektedir. Yetersiz su arıtımı halk sağlığı üzerinde önemli ve yıkıcı bir etkiye sahiptir. Nehirler, göller, akarsular ve diğer su kaynakları insan, hayvan ve çevresel atıklarıyla kirletilmekte ve mikrobiyal kontaminasyona maruz kalmaktadır (Wilkes ve ark., 2009; Otazo, 2019). Su kaynaklarında mikrobiyal kontaminasyonun iki olumsuz sonuç doğurmaktadır. Birincisi hastalıkların sular aracılığıyla hızlı yayılmasına epidemiğe veya pandemiye neden olmaktadır. İkincisi de sulara karışan aynı veya farklı türlerdeki bakterilerin antimikrobiyal dirençliliklerini birbirlerine aktararak antibiyotiklere karşı direnç kazanabilmesidir.

Antibiyotikler, bakterilerin gelişimini durdurma veya yaşamlarını sonlandıran güce sahip maddelerdir ve tıpta, veterinerlikte, hayvan yetiştiriciliğinde, tarım ilaçları sanayinde ve su ürünleri gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Wang ve Tang, 2010; Serwecińska, 2020). İlk antibiyotik olan Salvarsan 1910'da kullanılmaya başlanmıştır. 100 yıldan biraz fazla bir süre içinde antibiyotiklerin klinik olarak kullanıma başlaması ile tıpta büyük gelişmelere neden olmuş ve insan yaşamının ortalama süresini uzatmıştır. Alexander Fleming'in 1928'de penisilini keşfetmesi ve 1950-1960 yılları antibiyotik keşiflerinin artması ile altın çağ yaşanmıştır (Hutchings ve ark., 2019). Küresel yıllık antibiyotik üretiminin 100–200 bin tondan yüksek olduğu tahmin edilmektedir ve 1940'tan beri bir milyar tondan fazlası üretilmiştir (Wang ve Tang, 2010; Serwecińska, 2020). Bu şekilde aşırı kullanım antibiyotik atılımı ve çevresel salınım oranlarında önemli bir artışa ve dolayısıyla bakteri suşlarında ilaç direncinin artmasına yol açmıştır; bu artış uluslararası bir sorunu ve halk sağlığı için büyük bir tehdidi temsil etmektedir (Serwecińska, 2020).

İnsanlar ve hayvanlar tarafından antibiyotik kullanımı sonucunda su kaynaklarında antibiyotiğe dirençli bakteriler ortaya çıkmıştır. Su, bu organizmaların insanlar, hayvanlar ve çevre arasında yayılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Amaya

ve ark., 2012). Antibiyotiklerin yaygın kullanımından kaynaklanan evrimsel baskı, çoklu ilaç dirençli (ÇİD) suşların ortaya çıkmasına ve direncin bakteri türleri arasında yayılmasına katkı sağlamıştır. ÇİD suşların ortaya çıkmasının ana nedeni, antibiyotiklerin yanlış ve aşırı kullanımudur. Ayrıca fekal bakteriler aracılığı ile su kaynaklarının kirlenmesi, oldukça dirençli ve patojenik türlerin yayılma potansiyelini arttırmaktadır (Kümmerer, 2009; Wambugu, 2016). Su kütleleri ve su sistemleri, balık tutma, içme, banyo yapma ve özellikle çiğ yenen mahsullerin sulanması amaçlarıyla kullanan insanlar için patojen bakteri kaynakları olarak büyük potansiyele sahiptir (Liu ve ark., 2006; Wambugu, 2016). *E. coli*, çevre sularında fekal kirliliği için önemli bir gösterge organizmadır ve aynı zamanda gram negatif bakterilerde antimikrobiyal direnç modellerinin izlenmesinde yararlı bir mikroorganizmadır. Bu nedenle, özellikle insan kaynaklı olduğundan şüphelenilenler olmak üzere ÇİD suşları ile su kütlelerinin kirlenmesi değerlendirme gerektirir (WHO, 2006; Hawkey ve Jones, 2009; Wambugu, 2016).

Antibiyotikleri etkisiz hale getirmek için, bakteriler bir dizi direnç mekanizması geliştirmişlerdir. Bir grup duyarlı bakteri popülasyonu mutasyon ya da diğer bakterilerden transformasyon, konjugasyon veya transdüksiyon gibi genetik mekanizmalar aracılığıyla, dayanıklılığa karşı genetik kodlama elde ederek, antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilmektedir (Destiani, 2019).

Patojen enfeksiyonlarında ortaya çıkan büyüme ve antibiyotiğe dirençli bakteri sorunu küresel halk sağlığı tehditleri haline gelmiştir. Üstelik bu tehdit, HIV, prostat ve meme kanserlerinin toplamından daha yüksek ölüm ve hastalık oranlarına sahiptir (Grare ve ark., 2007; De Kraker ve ark., 2011; Carlet ve ark., 2011; Serwecińska, 2020). Avrupa Birliği'nde her yıl 400.000 adet antibiyotik direncine bağlı vakanın ortaya çıktığı ve bu vakaların 25.000'inin ölümlle sonuçlandığı tahmin edilmektedir. DSÖ antimikrobiyal direnci (AMD) öncelikli problemlerden biri olarak ele almaktadır. 2015'te AMD'e karşı olarak beş stratejik amaca yönelik bir evrensel hareket planı oluşturulmuştur: 1- AMD'e karşı bilincin artırılması 2-Araştırma ve gözlemlerle bu konuda bilgiyi artırmak 3-Enfeksiyon oranını azaltmak 4-Antimikrobiyal ajan kullanımını optimal hale getirmek 5- AMD'e karşı yapılan yatırımların devamlılığını sağlamak. Bunların dışında birçok ülke ve bölge, AMD'e karşı kendi hareket planlarını geliştirmiştir (Kahlmeter ve ark., 2006).

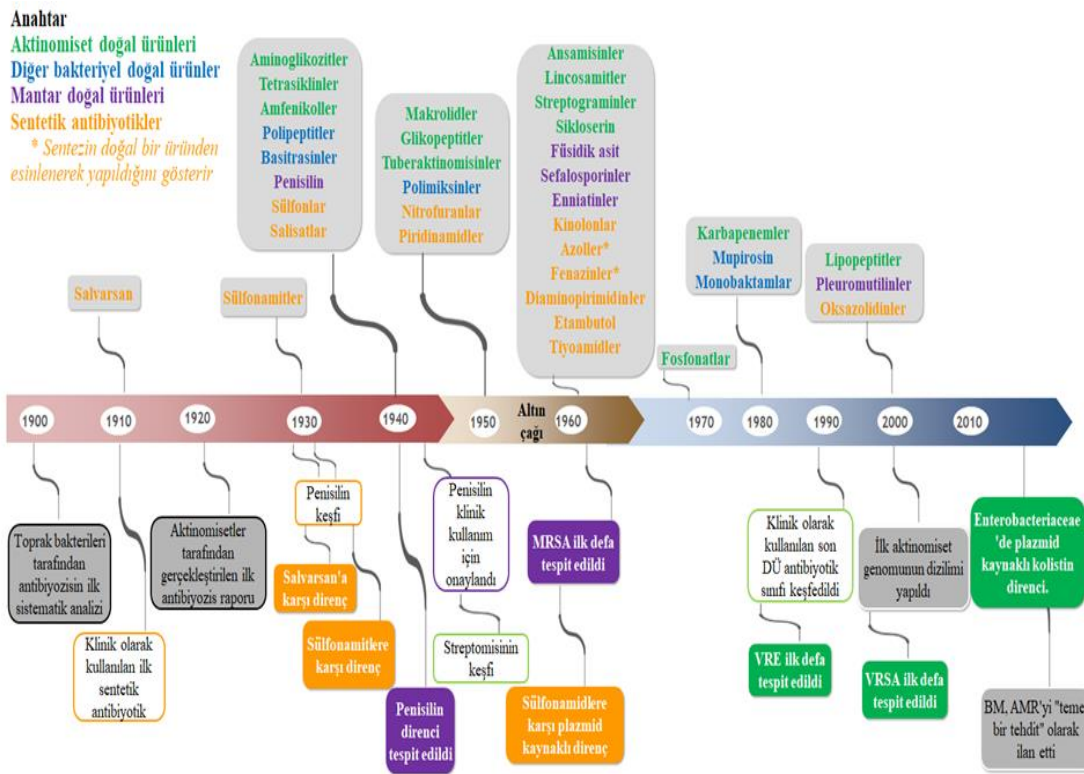
Bu çalışmanın amacı, Muş ilinde tarımsal sulamada kullanılan dört farklı su kaynağında *Escherichia coli* varlığının araştırılması ve suşlarının antimikrobiyal dirençliliklerinin ve plazmit içeriklerinin belirlenmesidir.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Antibiyotikler

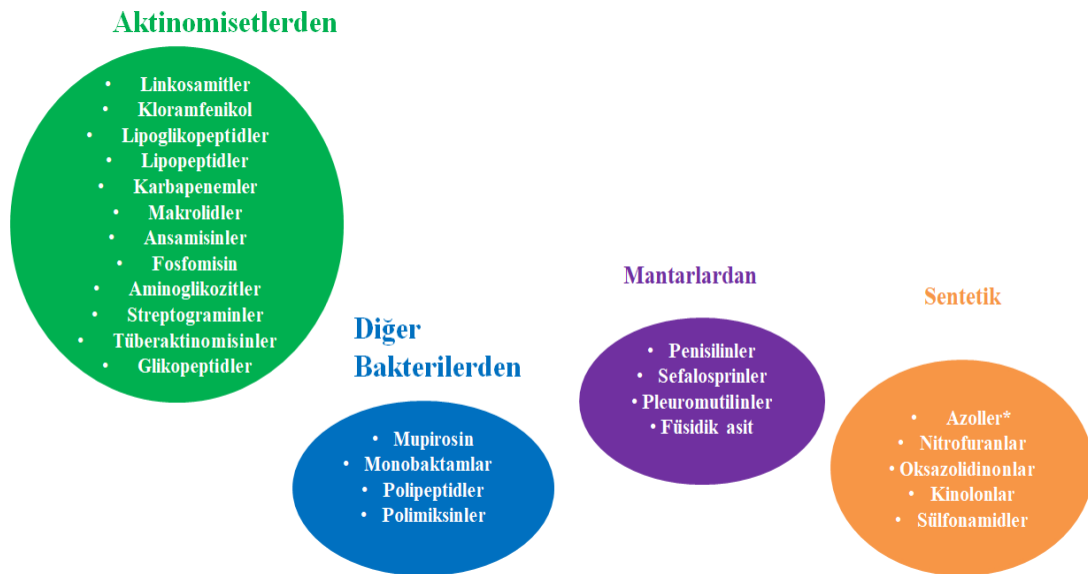
Antibiyotikler, düşük yoğunlukta diğer mikroorganizmaların gelişimini engelleyen ve düşük moleküler ağırlığı olan mikrobiyal metabolitlerdir (Serwecińska, 2020). Muhtemelen 20.yy en büyük tıbbi atılımı antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesiyle olmuştur (Katz ve Baltz, 2016; Hutchings ve ark., 2019) (Şekil 2.1). Antibiyotiklerin kullanımıyla birlikte bulaşıcı hastalıkların tedavisi dışında birçok modern tıbbi (kanser tedavisi, organ bağışısı ve açık kalp ameliyatları v.b.) tedavilerin öne açılmıştır (Prescott, 2014; Hutchings ve ark., 2019).



Şekil 2. 1 Yeni antibiyotik sınıflarının klinikte kullanımını gösteren zaman çizelgesi. Antibiyotikler kaynaklarına göre renklendirilmiştir: yeşil = aktinomisetler, mavi = diğer bakteriler, mor = mantarlar ve turuncu = sentetik. Zaman çizelgesinin alt kısmında, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), vankomisine dirençli enterokoklar (VRE), vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) ve Enterobacteriaceae'de plazmid kaynaklı kolistin direncinin ilk raporları da dahil olmak üzere antibiyotik keşfi ve antimikrobiyal dirençle ilgili önemli tarihler yer almaktadır (Hutchings ve ark., 2019).

Sir Alexander Fleming'in 1928 yılında penisilini keşfetmesi ile antibiyotiklerin keşfi artarak modern yaşantımıza girmiştir. Antibiyotikleri; Aktinomisetlerden (Örn. *Streptomyces aureofaciens*; Tetrasiklin), mantarlardan (Örn. *Cephalosporium acremonium*; Cephalosporin), bazı bakterilerden (Örn. *Amycolatopsis orientalis* -

Vankomisin) ve sentetik (Örn: Ciprofloxacın) olarak üretilen ilaçlara dönüşerek milyonlarca hayat kurtarmıştır(Can, 2011) (Çizelge 2.1) (Şekil 2.2).



Şekil 2. 2 Klinik olarak ilgili antibiyotik sınıflarının çoğu doğal ürünlerden elde edilir (Hutchings ve ark., 2019).

Antibiyotikler keşfedildiğinden beri patojen bakteriyel hastalıklarının oranını düşürüp milyonlarca insan ve hayvan hayatını kurtarmıştır ve ayrıca epidemileri-pandemileri engellemek ve kontrol etmek için de kullanılmaktadır (Pal ve ark., 2017; Otazo, 2019).

2.1.1 Antibiyotiklerin Keşif Süreci

Antibiyotik üreten mikropların hastalıkları önlemek için kullanımı binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. 2000 yıldan daha uzun bir süre önce Sırbistan, Çin, Yunanistan ve Mısır'da açık yaraları iyileştirmek amacı ile küflü ekmek lapaları kullanılmıştır. MÖ 1550'den kalma Eber'in papirüsü korunmuş en eski tıbbi belgedir ve ilaç listesinde küflü ekmek ve şifalı toprak bulunmaktadır (Haas, 1999; Hutchings ve ark., 2019). Bununla birlikte, Paul Ehrlich'in özellikle bakteri hücrelerini boyayan boyalar üzerindeki çalışmalarından geliştirerek sifilizin etkeni olan *Treponema pallidum*'u tedavi etmek için sentetik arsenik bazlı Pro- Salvarsan (kurtuluş arseniği) ve Neo-Salvarsan'ı keşfinde bulunmuştur (Gelpi ve ark., 2015; Hutchings ve ark., 2019). Bayer'de bir bakteriyolog olan Gerhard Domagk kızının kolunu ampütasyondan

kurtarmak için Paul Ehrlich'in çalışmalarından esinlenerek keşfettiği sülfonamidlerden Prontosil ilk kemoterapötik ajan ve ilk oral kullanılan antibiyotik olmuştur (Otten, 1986; Hutchings ve ark., 2019). 1928'de Alexander Fleming tarafından kontamine bir petri kabında gözlemlenen Penisilinin keşfi ile antibiyotik keşifleri hız kazanmıştır (Can, 2011). Selman Waksman 1930'larda toprakta yaşayan aktinomisetler tarafından üretilen ve tüberküloza karşı ilk ajan olan neomisin ve streptomisin de dahil olmak üzere çok sayıda antibiyotik keşfetmiştir. Waksman, "antibiyotikler" terimini kullanmış ve antibiyotiği "bir mikroorganizma tarafından başka bir mikroorganizmayı öldürmek için üretilen bir maddedir" şeklinde tanımlamasını yapmıştır (Waksman ve ark., 2010; Hutchings ve ark., 2019). Antibiyotiklerin çoğu hala klinikte kullanılmaktadır, ancak etkinlikleri AMD'nin yükselişiyle azalmıştır. Antibiyotiklerin keşfi gelişen teknoloji ve bilimle birlikte kullanımlarının artmasına neden olmuştur. 1970'lerden itibaren antibiyotik keşif hattının duraklamasıyla birlikte klinik deneyler hattında çok az yeni antibiyotiğin bulunduğu mevcut duruma yol açmıştır. Dolayısıyla, günümüzde klinik çalışmalarda kullanılan antibiyotiklerin çoğu yeni antibiyotik sınıflarından ziyade bilinen antimikrobiyal ürünler veya sentetik antibiyotik sınıflarının türevlerini oluşturmaktadır (Katz ve Baltz, 2016; Hutchings ve ark., 2019).

Çizelge 2. 1 Klinik olarak kullanılan tüm antibiyotik sınıfları ve kaynakları

Sınıf ^a	Keşfinin bildirildiği yıl ^b	Klinik olarak tanıtıldığı yıl	Örnek (ve üreten organizması)	Moleküler hedef
Aktinomisetlerden elde edilen antibiyotikler				
Aminoglikozitler	1944	1946	Kanamisin A (<i>Streptomyces kanamyceticus</i>)	Protein sentezi: 30S ribozomal alt birim
Tetrasiklinler	1948	1948	Tetrasiklin (<i>Streptomyces aureofaciens</i>)	Protein sentezi: 30S ribozomal alt birim
Amfenikoller	1947	1949	Kloramfenikol (<i>Streptomyces venezuelae</i>)	Protein sentezi: 50S ribozomal alt birim
Makrolidler	1952	1952	Eritromisin (<i>Saccharopolyspora erythraea</i>)	Protein sentezi: 50S ribozomal alt birim
Tüberaktinomisinler	1951	1953	Viomisin (<i>Streptomyces puniceus</i>)	Protein sentezi: 30S ve 50S ribozomal alt birimleri (alt birimler arası B2a köprüsüne bağlanır)

Glikopeptitler	1954	1958	Vankomisin (<i>Amycolatopsis orientalis</i>)	Hücre duvarı sentezi: Lipid II'nin D-Ala-D-Ala terminalleri
Linkozamidler	1962	1963	Klindamisin Linkomisinin yarı sentetik türevidir (<i>Streptomyces lincolnensis</i>)	Protein sentezi: 50S ribozomal alt birim
Ansamisinler	1959	1963	Rifamisin SV Rifamisinin yarı sentetik türevidir (<i>Amycolatopsis rifamycinica</i>)	Nükleik asit sentezi: RNA polimeraz
Sikloserinler	1955	1964	Seromisin (<i>Streptomyces orchidaceus</i>)	Hücre duvarı sentezi: alanin rasemaz ve D-alanin-D alanin ligaz inhibisyonu
Streptograminler	1953	1965	Pristinamisin (<i>Streptomyces pristinaespiralis</i>)	Protein sentezi: 50S ribozomal alt birim
Fosfonatlar	1969	1971	Fosfomisin (<i>Streptomyces fradiae</i>)	Hücre duvarı sentezi: MurA (UDP-GlcNAc-3 enolpirüviltransferaz) inhibisyonu
Karbapenemler	1976	1985	Meropenem Tiyenamisin bazlı sentetik molekül (<i>Streptomyces cattleya</i>)	Hücre duvarı sentezi: penisilin bağlayıcı proteinler
Lipopeptitler	1987	2003	Daptomisin (<i>Streptomyces roseosporus</i>)	Hücre duvarı: hücre zarının bozulması
Lipiarmisinler	1975	2011	Fidaxomicin (<i>Dactylosporangium aurantiacum</i> subsp. <i>hamdenesis</i>)	Nükleik asit sentezi: RNA polimeraz
Diğer bakterilerden elde edilen antibiyotikler				
Poliipeptitler	1939	1941	Gramisidin A (<i>Bacillus brevis</i>)	Hücre duvarı: bakteri hücre zarının geçirgenliğini artıran iyon kanalları oluşturur
Basitrasin	1945	1948	Basitrasin A (<i>Bacillus subtilis</i>)	Hücre duvarı sentezi: C ₅₅ -izoprenil pirofosfatın defosforilasyonunun inhibisyonu
Polimiksinler	1950	1959	Kolistin (<i>Paenibacillus polymyxa</i>)	Hücre duvarı: hücre zarının bozulması
Mupirosin	1971	1985	Mupirosin (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	Protein sentezi: izolösil t-RNA sentetaz
Monobaktamlar	1981	1986	Aztreonam SQ 26,180 bazlı sentetik molekül (<i>Chromobacterium violaceum</i>)	Hücre duvarı sentezi: penisilin bağlayıcı proteinler

Mantarlardan elde edilen antibiyotikler

Penisilinler	1929	1943	Amoksisilin Penisilinin yarı sentetik türevi (<i>Penicillium chrysogenum</i>)	Hücre duvarı sentezi: penisilin bağlayıcı proteinler
Fusidik asit	1958	1962	Fusidik asit (<i>Fusidium coccineum</i>)	Protein sentezi: uzama faktörü G
Enniatinler^c	1953	1963	Fusafungine (<i>Fusarium lateritium</i>)	Hücre duvarı: hücre zarının bozulması
Sefalosporinler	1948	1964	Sefasetril Sefalosporin C'nin yarı sentetik türevi (<i>Acremonium chrysogenum</i>)	Hücre duvarı sentezi: penisilin bağlayıcı proteinler
Pleuromutilinler	1951	2007	Retapamulin Pleuromutilin'in yarı sentetik türevi (<i>Pleurotus mutilus</i>)	Protein sentezi: 50S ribozomal alt birim

Sentetik antibiyotikler

Arsfenaminler^d	1907	1910	Salvarsan	Bilinmemektedir
Sülfonamidler	1932	1936	Mafenid	Folat sentezi: dihidropteroat sentetaz inhibisyonu
Salisilatlar^e	1902	1943	4-Aminosalisilik asit	Folat sentezi: dihidrofolat redüktazı inhibe eden ön ilaç
Sülfonlar	1908	1945	Dapson	Folat sentezi: dihidropteroat sentetaz inhibisyonu
Piridinamidler	1952	1952	İzoniyazid	Hücre duvarı: mikolik asitlerin sentezini engelleyen ön ilaç
Nitrofuraneler	1945	1953	Nitrofurantoin	DNA sentezi: DNA hasarı
Azoller^f	1959	1960	Metronidazol	DNA sentezi: DNA hasarı
(Floro)kinolonlar	1962	1962	Siprofloksasin	DNA sentezi: DNA giraz ve topoizomerez IV inhibisyonu
Diaminopirimidinler	1950	1962	Trimetoprim	Folat sentezi: dihidrofolat redüktaz inhibisyonu
Tiyoamidler	1956	1965	Etiyonamid	Hücre duvarı: mikolik asitlerin sentezini engelleyen ön ilaç
Etambutol	1962	1962	Ethambutol	Hücre duvarı: arabinosil transferaz inhibisyonu
Fenazinler^f	1954	1969	Klofazimin	DNA sentezi: guanin bazlarına bağlanır
Oksazolidinonlar	1987	2000	Linezolid	Protein sentezi: 50S ribozomal alt birim

Diyarilkinolinler	2004	2012	Bedakuilin	ATP sentezi: proton pompası inhibisyonu
--------------------------	------	------	------------	---

2.1.2 Antibiyotik Direnç

Antibiyotik direnci; bakteri, hayatta kalıp gelişmeye devam etmek için metabolik veya başka savunma mekanizmalarını kullandığında oluşmaktadır. Antibiyotik atıklarının çevreye salınımı, antibiyotiğin gereğinden fazla veya tedavi amacı olmadan kullanılması zamanla giderek artmış, antibiyotik direncinin evrimini ilerletmiş ve küresel seviyede toplumsal sağlık problemlerine sebep olmuştur (Porta ve Last, 2018; Otazo, 2019). AMD kuşkusuz 21. yüzyılın insan sağlığına yönelik en önemli tehditlerden birini oluşturmaktadır. Yüzyıl içinde küçük enfeksiyonların ve yaygın hastalıkların ölümcül hale geldiği antibiyotik sonrası bir dönemin ortaya çıkacağı tahmin edilmektedir (O'Neill, 2016; Hill, 2016).

AMD'nin en az 30000 yaşında olduğu tahin edilmek edilmektedir (D'Costa ve ark., 2011). İlk doğal antibiyotiklerin 40 milyon yıl önce ortaya çıktığı tahmin edilmektedir, bu da sezgisel olarak ilk antibiyotik direnç genlerinin (ADG) benzer bir zaman noktasında ortaya çıkmış olması gerektiğini düşündürmektedir (Hall ve Barlow, 2004).

2.1.3 Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Mikroorganizmalar, antibiyotiklere karşı hayatta kalabilmek için çeşitli mekanizmalar kazanmışlardır. Antibiyotiklere karşı, direnç gösterdiği önemli mekanizmalar arasında ilaç inaktivasyonu veya modifikasyonu, hedef bölgenin değiştirilmesi metabolik yolda değişiklik ve azaltılmış ilaç birikimi bulunmaktadır (Nagulapally, 2007) (Şekil 2.1).

2.1.3.1 İlaç İnaktivasyonu veya Modifikasyonu

Dirençli bakteriler, antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesini etkileyen enzimleri sentezler ve salgılar. Örneğin antibiyotiğe dirençli bakteriler tarafından sentezlenen β -laktamazlar, penisilinin β -lakton halkasını hidrolize ederek antibiyotiği etkisiz hale getirmektedir (Nagulapally, 2007).

2.1.3.2 Hedef Alanın Değiştirilmesi

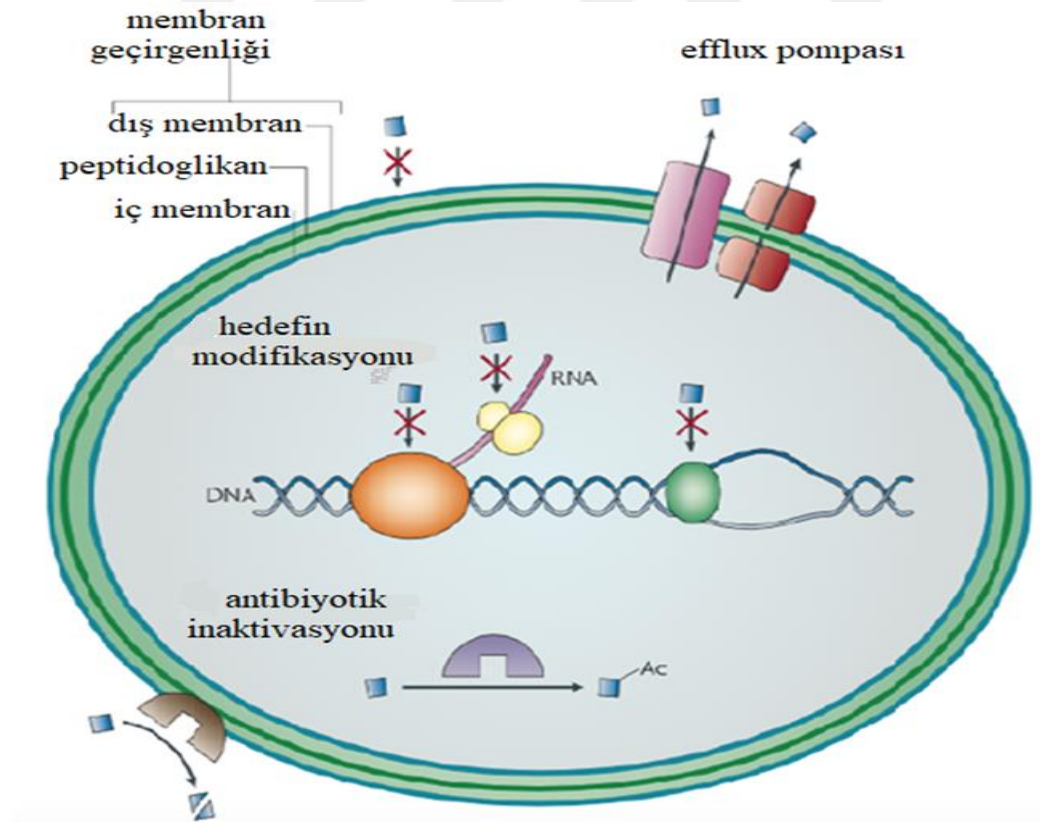
Penisilin, bakteri hücre duvarının sentezi için gerekli bileşenler olan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanarak bakterilere etki etmektedir. Bakteriler, ya aşırı PBP üretimi ya da penisilinlere düşük afinitesi olan PBP'lerin sentezi yoluyla penisiline direnç geliştirmektedir (Nagulapally, 2007).

2.1.3.3 Metabolik Yolun Değiştirilmesi

Bakteriler, antibiyotiklerin etkisinden kaçınmak için metabolik yollarını değiştirebilirler. Örneğin, sülfonamidler folik asit sentezini engeller ve sülfanomide dirençli bakteriler folik asit sentezi için alternatif yollar geliştirir veya sentezini azaltır (Nagulapally, 2007).

2.1.3.4 Azaltılmış İlaç Birikimi

Antibiyotiklere direnç geliştiren bakteriler, ya ilacın geçirgenliğini değiştirerek ya da ilacın aktif akışını artırarak antibiyotik alımını azaltabilmektedir (Nagulapally, 2007).



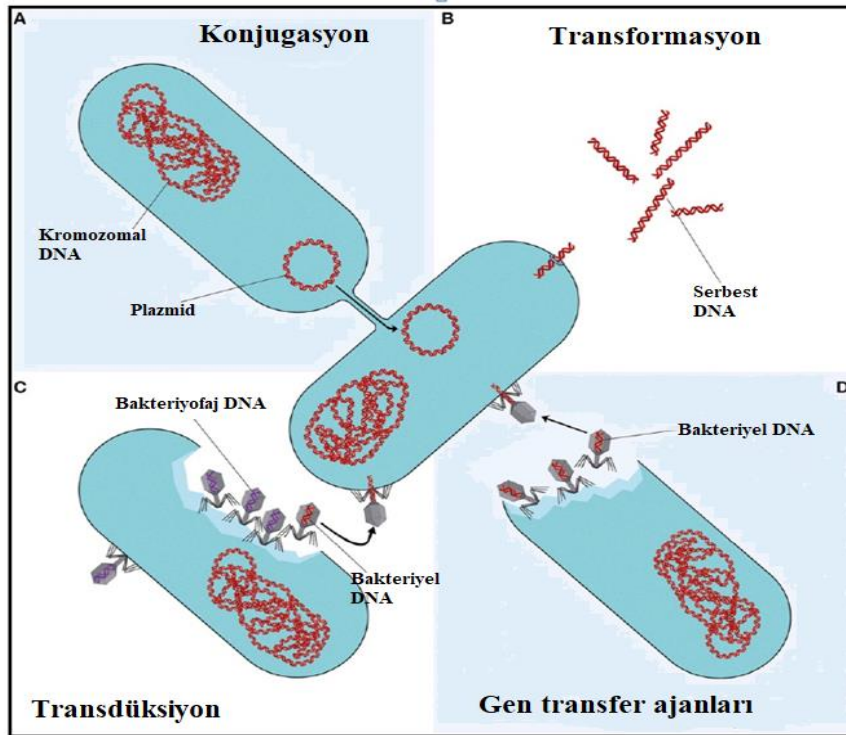
Şekil 2. 3 Antibiyotik direnç mekanizmaları (Allen ve ark., 2010)

Önceleri bakterilerdeki direncin, birincil direnç olarak adlandırılan spontan mutasyonla elde edildiğine inanılmaktaydı. Pek çok bakteri türünde çoklu antibiyotik direncinin yaygın gelişimi, antibiyotik direncinin kazanılmasında spontan mutasyonun ötesinde başka bir mekanizmanın sorumlu olduğuna araştırmacıların inanmalarına yol açmıştır. Bununla birlikte antibiyotik direncinin, benzer ve farklı bakteri türleri arasında antibiyotik direnç belirleyicilerinin plazmitler, integronlar ve transpozonlar gibi hareketli elementler aracılığıyla yatay gen transferi yolu ile de elde edilebileceği anlaşılmıştır (Pal ve ark., 2017; Otazo, 2019). Direncin gelişmesinden sorumlu mekanizma, yanal veya yatay gen transferidir. Yatay gen transferinin (YGT) üç olası mekanizması vardır. Bunlar transdüksiyon, transformasyon ve konjugasyondur (Şekil 2.2). YGT, ADG'lerin mobilizasyonu ve yayılması için en önemli ve en önemli mekanizmalardan biri olarak geniş çapta kabul görmüştür (Von Wintersdorff ve ark., 2016; Otazo, 2019).

Transdüksiyon, bakteriye özgü virüsler veya bakteriyofajlar, yakından ilişkili iki bakteri arasında DNA aktardığında meydana gelmektedir. Transdüksiyon iki yolla meydana gelebilmektedir. İlki genelleşmiş transdüksiyon, konak genomunun rastgele bir bölgesinden gelen DNA'nın virüs DNA'sına eklenmesidir. İkinci yol özelleşmiş transdüksiyonda ise konak kromozomunun belirli bir DNA bölgesinden gelen virüs DNA'sındaki genomların yerini değiştirerek virüs DNA'sına eklenmesidir. Transformasyon, DNA'nın bir kısmının bakteriler tarafından dış ortamdan alındığı bir süreçtir. Dış ortamda bulunan bu DNA, başka bir bakterinin ölümünden kaynaklanmaktadır. Konjugasyon, iki bakteri arasında doğrudan hücre-hücre teması olduğunda ve plazmit adı verilen küçük DNA parçalarının transferi gerçekleştiğinde meydana gelmektedir (Nagulapally, 2007). Bu YGT mekanizmalarının sıklığı, konjugasyon ve bakteriyal plazmidlerin dominant olduğu oransal faktörlere ve baskılara bağlıdır (Nazarian ve ark., 2018; Otazo, 2019) (Çizelge 2.2). Bundan başka, bakterideki çoklu ilaç direnci, birlikte-direnç mekanizmalarıyla (mobil genetik eleman (MGE) sayesinde çoklu dirençli genlerin seçilimi) ve/veya çapraz direnç mekanizmaları (geniş bir substrat aralığına sahip direnç genlerinin varlığı) ile gelişmiştir (Baker-Austin ve ark., 2006; Pal ve ark., 2017; Otazo, 2019).

Çizelge 2. 2 Yatay gen transferi (Otazo, 2019)

Mekanizma	Vektör	Kısıtlamalar	Oran Faktörleri
Konjugasyon	Doğrudan hücreden hücreye temas	Yalnızca konjugatif ve mobilize edilebilir plazmitler için mümkündür	Verici ve alıcının ikili uyumluluğu
Transformasyon	Serbest hücre dışı DNA	Türlerin yaklaşık %1'i doğal olarak dönüştürülebilir (yani yetkin hale gelebilir ve alıcı olarak hareket edebilir)	Alıcının yeterlilik oranı
Transdüksiyon	Transdüksiyon fajları	Konakçıda hem verici hem de alıcı transdüksiyon fajı olabilir	Verici ve alıcı için ortak olan faj popülasyonunun boyutu
Vezikül aracılı transfer	Hücre dışı veziküller	Bazı türlerde vezikül üretimi ve alımı düşük	Vericinin etkinliği ve alıcının etkinliği



Şekil 2. 4 Bakterilerde antibiyotik direncinin kazanılması için yatay gen transfer mekanizmaları (Otazo, 2019).

2.1.4 Antibiyotiklerin Etki Mekanizması

Antibiyotik tedavileri konakçı hücrelerine doğrudan olarak değil de hedeflenmiş hücrelere doğru hareket eden eşsiz bir tedavi şeklidir.

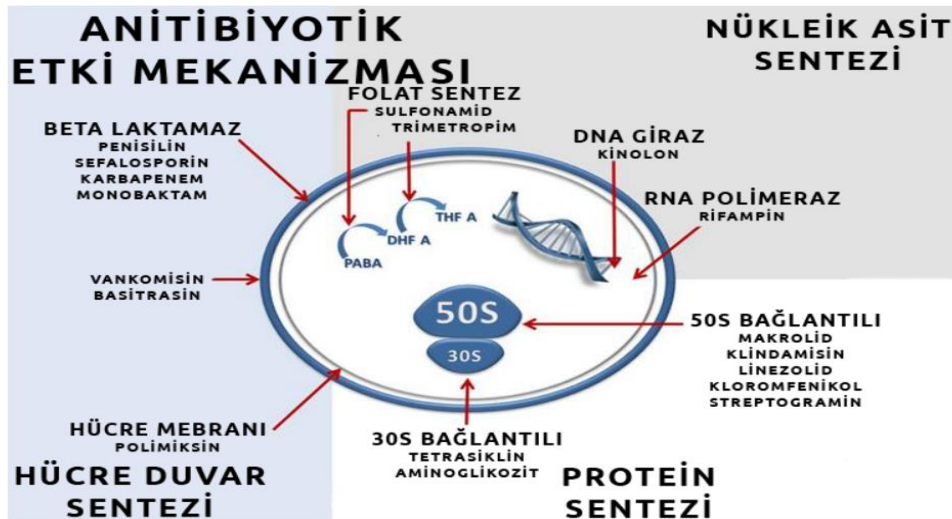
Antibiyotikler mikroorganizmaların hücre duvarı sentezinin engellenmesine, hücre zarı geçirgenliğinin değiştirilmesine, nükleik asit sentezinin önlenmesine, ara

metabolizmanın bozulmasına ve protein sentezinin engellenmesine etki ederler. Çizelge 2.3’ de başlıca antibiyotik sınıflarını ve etki mekanizmaları verilmiştir (Şekil 2.3).

Çizelge 2. 3 Başlıca antibiyotik sınıfları ve etki mekanizmaları (Destiani, 2018)

Etki mekanizmaları	Antibiyotik kategorileri
Hücre duvarı sentezinin engellenme	Penicillin, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar, vankomisin, teikoplanin
Protein sentezi engelleme	Tetrasiklinler, aminoglikozitler, oksazolidinonlar, streptograminler, ketolidler, makrolidler, linkozamidler
Nükleik asit sentezinin önlenme	Florokinolonlar
Metabolik yolun engellenme	Sülfonamidler, trimetrofim
Bakteriyel membran yapısının bozulma	Polimiksinler, daptomisin

Hücre duvarını hedefleyen antibiyotikler yıllardan beri kullanılmaktadır ve geniş bir beta-laktam grubunu (penisilinler, ampisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve monobaktamlar) içerirler. β -laktamlar genel olarak penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP’lere) bağlanırlar ve hücre duvarında peptidoglikan sentezlenmesini engelleyerek bakterinin lizis olmasını sağlarlar. Vankomisin gibi glikopeptidler peptidoglikan öncüleriyle işleme geçerek onların PBPlere bağlanmasını engellerler ve hücre duvarı sentezini engellemiş olurlar (Džidić ve ark., 2008; Kapoor ve ark., 2017; Otazo, 2019).



Şekil 2. 5 Antibiyotiklerin etki mekanizması (Kapoor ve ark., 2017)

Tetrasiklinler, aminoglikozitler, makrolidler ve kloramfenikol gibi antibiyotikler protein sentezi mekanizmaları ve ribozomla etkileşim kurarlar. Ribozomdaki büyük 50S

veya küçük 30S'lik alt üniteleri hedef alırlar, böylelikle tRNA ile etkileşim kurarak protein sentezini engellerler ve translasyonu durdururlar, bakteri hücrelerinde tamamlanmamış peptid zincirlerini serbest bırakırlar (Kapoor ve ark., 2017; Otazo, 2019).

Kinolonlar ise DNAGiraz ve Topoizomeraz IV yan ünitesine bağlanırlar ve DNA sentezini engellerler. Bakterideki DNA replikasyonu için bu iki enzime ihtiyaç duyulmaktadır. Bu enzimler DNA replikasyonu esnasında kesme, DNA'nın super sarmal yapması ve tekrar zincire eklenme işlemine yararlar (Higgins ve ark., 2003; Kapoor ve ark., 2017; Otazo, 2019). Son olarak, sülfonamidler ve trimetoprim, bakterilerde folik asit metabolizmasını engelleyen sırasıyla dihidropteroat sentaz ve dihidrofolat redüktaz enzimlerini inhibe ederek etki ederler (Kapoor ve ark., 2017; Otazo, 2019).

2.1.5 Sularda Antibiyotikler

Antibiyotiklerin çevreye salınması için üç farklı yol sayılabilir: hayvancılık ve balık yetiştiriciliği için yem katkı maddeleri, insan ve veteriner ilaçları ve üretim sırasında çevresel salınımdır (Şekil 2.4). Tipik olarak, insanlar ve hayvanlar tarafından alınan antimikrobiyallerin % 10-90'ı metabolize edilir ve geri kalanı, kentsel atık suları, gübreyi ve biyo-katıları kirletebilecek değişmemiş, yani hala aktif bir formda dışkı ile atılmaktadır (Zhao ve ark., 2010; Serwecińska, 2020).

İnsan ve veteriner antibiyotiklerinin yaygın kullanımının bir sonucu olarak, hastane atık suları ve hayvan gübresi, çevresel antibiyotik direnç genlerinin (ADG) ana kaynakları olarak kabul edilmektedir. ADG'ler, arıtılmamış atık suyun doğrudan boşaltılmasıyla veya atık su toplama sistemleri yoluyla kanalizasyon arıtma sistemlerine ve ardından atık su ve deşarj edilen çamurun bulunduğu ortamlara boşaltılmasıyla su ortamlarına girebilmektedir (Zhang ve ark., 2009). Yüzey suları ve sığ yeraltı suları yaygın olarak içme suyu kaynağı olarak kullanılır; bu nedenle ADG'ler içme suyu arıtma tesislerinden geçip su dağıtım sistemlerine girebilmektedir (Schwartz ve ark., 2003).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2014 yılında Antimikrobiyal Direnç Dünya Gözetim raporunu yayınlamıştır. Bu rapordaki en önemli husus, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* ve *Staphylococcus aureus* gibi patojenler arasında direncin tüm

Musluk suyundaki ADB-ADG oranının kaynak suyundaki orandan daha yüksek olması, su artıma işleminin yaşayan bakterilerin antibiyotiğe karşı dirençlerini arttırmasını ve ADG'lerin bakteri popülasyonlarındaki transferini sağlamaktadır veya ADB'lerin antibiyotik direnci olmayan bakterilere göre su artıma metodlarına daha dayanıklı olduğunu göstermektedir (Koksal ve ark., 2007; Destiani, 2019). Çizelge 2.4 içme suyundaki ADG'leri ve onların biyolojik kaynaklarını göstermektedir (Destiani, 2019).

Mary ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmalar göstermiştir ki, şişelenmiş mineral sular da ADB kaynağı olabilir (Mary ve ark., 2000; Destiani, 2019). Bu çalışma göstermiştir ki, İtalya'da şişeli mineral sudan elde edilen bakterilerin %70'i dört antibiyotiğe kadar direnç göstermiştir. Direnç sıklığı sırasıyla şu şekildedir: Nalidiksik asit > ampicilin > streptomisin > tetrasiklin > gentamisin > kloramfenikol > rifampin. Fransa ve Portekiz'de yürütülen çalışmalarda, şişelenmiş sudan elde edilen bakteri kolonileri üç veya daha fazla antibiyotiğe direnç tespit edilmiştir (Diaz ve ark., 2017; Destiani, 2019).

Çizelge 2. 4 İçme suyunda bulunan seçilmiş antibiyotik direnç genleri (Destiani, 2018)

Gen	Biyolojik kaynak	Referans
<i>Tet(A)</i>	<i>Aeromonas spp, Alcaligenes, Pseudomonas spp, E.coli</i>	Cernat et al.(2007), Shi et al. (2012)
<i>Sul1</i>	<i>Actinobacteria, Aeromonas spp, E.coli</i>	Xi et al. (2009), Shi et al.(2012), Khan et al.(2015), Adesoji et al. (2016), Bergeron et al.(2015)
<i>Bla-TEM1</i>	<i>E.coli, Pseudomonas spp</i>	Cernat et al.(2007), Shi et al. (2012)
<i>dfrA</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	Cernat et al.(2007), Adesoji et al. (2016)
<i>Mph(A)</i>		Referans bulunamadı(KATAYAMA ve NOGUCHI, 1999)

2.1.6 Antibiyotiğe Dirençli Mikroorganizmalar

Antibiyotik direnci, mikroorganizmaların antibiyotiklerin etkilerine dayanma yeteneğidir. Antibiyotik direncinin tarihesi 1943'te *Staphylococcus*'un penisilin direnci gösterdiğinin tespit edilmesiyle 1940'lara dayanmaktadır (Ventola, 2015; Destiani, 2019). O zamandan beri antibiyotiklerin keşfiyle antibiyotik dirençli bakteriler başarıyla var olmaya devam etmişlerdir. Bakterilerde antibiyotik direncinin gelişmesi ve

çoğalması halk sağlığı açısından oldukça önemlidir çünkü bir hastanın, dirençli bir organizma ile temas etmesi veya antibiyotik tedavisi başladığında vücutta dirençli bir patojen ortaya çıkması antibiyotiğe dirençli bir enfeksiyon gelişmesine sebep olabilir (Lewis, 1995; Nagulapally, 2007). 2014 yılında Dünya Sağlık Örgütü *E.coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus*'u direnç ile ilgili patojenler olarak listelemiştir (WHO, 2014).

Klinik ve çevresel olanlar da dahil olmak üzere çeşitli nişlerde ve bakteri popülasyonlarında bakteriyel ilaç direnci genlerinin yolları ve aktarım mekanizmaları hakkındaki bilgiler sürekli güncellenmektedir. Örneğin, Romanya'da yapılan araştırmalarda, çiğ tavuk etinin yaklaşık %13'ünde dirençli *Salmonella* bakterisi tespit edilmiştir. Bu bakteriler, tetrasiklin (izolatların %66,6'sı), nalidiksik asit (%64,3) sülfametoksazol (%64,3), siprofloksasin (%61,9), sterteptomisin (%59,5), trimetoprim (%33,3), ampisilin (%9.5), kloramfenikol (%7.1) ve gentamisin (%2.4) olmak üzere antibiyotiklere direnci belirleyen bir gen deposu oluşturur (Tirziu ve ark., 2015; Serwecińska, 2020).

Bazı dirençli bakteriler çevrede doğal olarak bulunur ve ayrıca klinik öneme sahiptir. Gram negatif bakteriler için direnç eğilimleri bildiren bir grup olan Avrupa Antimikrobiyal Direnç Gözetim Ağı, doğal ortamdaki ilaç direnci olgusunu acilen yavaşlatma ihtiyacının altını çizmiştir. Gram negatif bakteriler, hücre duvarı özelliklerinden dolayı vankomisine doğal olarak dirençlidir. Ek olarak, *Klebsiella spp* ampisiline karşı duyarsızlık gösterir ve *Pseudomonas aeruginosa* suşları genellikle tetrasiklin, kloramfenikol, sülfonamidler ve trimetoprim'e dirençlidir (Ruppé ve ark., 2015; Serwecińska, 2020).

Gram-negatif bakteriler arasında, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* cinsleri ile *Enterobacteriaceae* familyasından olanlar, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yeni, etkili ilaçların geliştirilmesine acilen ihtiyaç duyulan taksonlar olarak önceliklendirilmiştir. Bu Gram-negatif bakteri grupları, dört ana nedenden ötürü antimikrobiyal direnç ajanları olarak özellikle yüksek endişe kaynağıdır. İlk olarak, sefalosporinler, penisilinler ve monobaktamlar gibi antimikrobiyallere direnç kazandıran geniş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL'ler) üretirler ve artan sayıda karbapenem dirençli suş içerirler; bunların hepsi dirençli organizmalara karşı “antibiyotik savunmasının son hattı” olarak kullanılan yeni nesil antibiyotiklerdir (Bush ve Jacoby, 2010; Miyagi ve Hirai, 2019; Serwecińska, 2020). Endişe verici bir şekilde,

son on yılda dünya çapında hastane kaynaklı karbapenem dirençli bakteriler (KRB) enfeksiyonlarında dramatik bir artış kaydedilmiştir, *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* enfeksiyonları yoğun bakım ünitelerinde %40-80 mortalite göstermiştir. İkinci olarak, bu türlerin çoğu, hastaları veya bağışıklık sistemi zayıf olanları enfekte eden fırsatçı patojenlerdir. Üçüncüsü, hastane enfeksiyonları, sepsis, yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları ve ikincil pnömoni ile de ilişkilidirler. Son olarak, bu bakterilerin birçoğunun doğada geniş çapta dağılmış olduğu görülmektedir ve kontamine bir ortamda büyümeleri artabilir (Nodoushan ve ark.; Joshi ve Litake, 2013; Du ve ark., 2019; Serwecińska, 2020).

Gram pozitif metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisine dirençli *Enterococcus* (VRE) bakterileri de halk sağlığı için büyük endişe kaynağıdır. Her ikisinin de salgınlara neden olma potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir (Arora ve ark., 2014; Organization, 2018; Serwecińska, 2020). Çevrede GSBL, MRSA ve VRE üreticilerinin bu tür bir direncin rezervuarı olarak hareket edebildiklerini az sayıda çalışma doğrulasa da, bu genler insan patojenlerine aktarılabildiğinden bunların varlığı yine de rahatsız edicidir (Czekalski ve ark., 2015; Zieliński ve ark., 2020; Serwecińska, 2020). Hastane ve belediye kanalizasyonunun yanı sıra hayvan çiftlikleri ve kirli nehirlerin etrafındaki topraktan bir dizi ÇİD bakterisi izole edilmiştir, bu da bunların antibiyotik direncinin yayılmasında rol oynayabileceklerini ve potansiyel patojenler haline gelebileceğini düşündürmektedir. Hem çevresel hem de klinik bakterilerin özelliklerinin öğrenilmesi ile çeşitli antibiyotiklere karşı dirençleri ile ilgili olarak klinik önemlerin artmasına neden olmuştur (Zong ve Zhang, 2013; Serwecińska, 2020; Serwecińska ve ark., 2021). DSÖ 2017 yılında Çizelge 2.5'de yer alan antibiyotiğe dirençli bakterileri sıralamıştır.

Çizelge 2. 5 DSÖ'nün antibiyotiğe dirençli bakteri sıralaması ((WHO), 2017)

Öncelik	Patojen	Dirençli
Kritik	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Carbapenem
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	Carbapenem Carbapenem + 3. nesil sefalosporin GSBL üreten
Yüksek	<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomycin
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Methicillin + vancomycin
	<i>Helicobacter pylori</i>	Clarithromycin
	<i>Campylobacter</i> spp	Fluoroquinolone
	<i>Salmonellae</i>	Fluoroquinolone
Orta	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	3. nesil sefalosporin + Fluoroquinolone
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Penisiline duyarlı olmayan
	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Shigella</i> spp.	Ampicillin Fluoroquinolone

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

2.2.1 Genel Özellikleri

Escherichia coli (*E. coli*), Enterobacteriaceae familyasına ait gram negatif bir bakteridir. İnsan ve hayvan bağırsakları dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda bulunabilen çok yönlü bir mikroorganizmadır (Figueras ve ark., 1997).

E. coli, ilk olarak 1885 yılında Theodor Escherich tarafından izole edilmiştir. Escherich, bu bakteriyi hayvanlardaki bağırsak florasından ayırt etmiş ve ona "Bacterium coli commune" adını vermiştir. İzolasyon işlemi sırasında, bir çocuğun dışkı örneğinden bakteriyi izole ettiği bilinmektedir (Adams ve Moss, 1999).

1918 yılında Fransız bakteriyolog Félix d'Herelle, *E. coli* 'yi içeren bir bakteriyofaj keşfetmiştir. Daha sonra, *E. coli* 'nin farklı serotiplerini tanımlayan Fransız bakteriyolog ve taksonomist André Le Minor çalışmalarını sürdürmüştür.

1950'lerden itibaren genetik araştırmaların gelişmesiyle birlikte *E. coli* üzerinde yapılan çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmalar, genetik yapı, replikasyon, gen ekspresyonu ve mutasyon gibi konuları içermektedir. *E. coli*, genetik araştırmaların temel model organizmalarından biri olarak kabul edilip ve genetik mühendislik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Escherich, 1885; Chappelle, 2000).

2.2.2 Morfolojisi ve Fizyolojisi

2.2.2.1 Morfolojisi

Escherichia coli, gram-negatif bir bakteridir. Şekli çubuk (bacillus) şeklindedir. Boyutları yaklaşık olarak 1-3 µm uzunluğunda ve 0.25-1 µm genişliğindedir. Işık mikroskopunda incelendiğinde, genellikle dikdörtgen veya silindir şeklinde görünmektedir (Madigan ve ark., 2014).

2.2.2.2 Fizyolojisi

Escherichia coli, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Yani hem oksijenli (aerobik) hem de oksijensiz (anaerobik) ortamlarda yaşayabilmektedir. Heterotrofiktir, yani karbon kaynağını organik maddelerden elde edilmektedir. *E. coli*, glukoz gibi karbon kaynaklarını fermantasyon yoluyla metabolize edebilmektedir. Genellikle laktozu ve diğer karbonhidratları da fermentasyon yoluyla parçalayabilmektedir. *E. coli*, nitratı nitrite veya azota indirebilmektedir. Ayrıca, *E. coli* çeşitli amino asitleri sentezleyebilmekte ve bazı vitaminleri üretebilmektedir (Nelson ve ark., 2017).

2.2.3 Genetik Özellikleri

E. coli 'nin genetik materyali tek bir, dairesel kromozom bulunmaktadır. Bu kromozom yaklaşık 4,6 milyon baz çiftinden oluşmaktadır. Kromozom, bakterinin temel genetik bilgisini içermektedir (Blattner ve ark., 1997).

E. coli, birçok plazmid adı verilen küçük, dairesel DNA parçacıkları taşıyabilmektedir. Plazmidler genellikle ek genetik bilgi veya özellikler (örneğin, antibiyotik direnci) kodlayabilmektedir. Plazmidler, hücreler arasında gen transferi ve genetik çeşitlilik sağlama konusunda önemli bir rol oynamaktadır (Johnston ve ark., 2014).

E. coli, yüksek genetik çeşitlilik göstermektedir. Farklı suşlar arasında genetik farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklar, gen ekspresyonu, virülans faktörleri ve diğer fenotipik özelliklerde değişikliklere yol açabilmektedir. Genetik değişimler, mutasyonlar, rekombinasyon ve yatay gen transferi yoluyla gerçekleşebilmektedir (Johnston ve ark., 2014) (Çizelge 2.6).

Çizelge 2. 6 *E.coli*'nin Genetik Özellikleri

Genetik Özellik	Açıklama
Genom Boyutu	Yaklaşık 4.6 milyon baz çifti
Plazmid Varlığı	Evet, çeşitli plazmidler bulunabilir
Kapsül Varlığı	Bazı suşlarda kapsül olabilir
Faj Varlığı	Bakteriyofaj enfeksiyonlarına duyarlıdır
Antibiyotik Direnci	Bazı suşlar çoklu ilaç direncine sahip olabilir
Virülans Faktörleri	Toksinler, yapışma faktörleri, enzimler vb.
Metabolik Yetenekler	Glikoliz, sitrat döngüsü, nitrat indirgeme vb.
Replikasyon Mekanizması	Çift sarmal DNA replikasyonu

2.2.4 Ekolojik Rolü

E. coli 'nin ekolojik rolü hem faydalı hem de patojenik özelliklerini içermektedir. Bu bilgiler, *E. coli* 'nin farklı ortamlarda ve organizmalarda nasıl etkileşimde bulunduğunu ve önemli bir mikroorganizma olduğunu göstermektedir.

E. coli, sindirime ve vitamin sentezine katkıda bulunduğu, insanların ve sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal sisteminin normal bir sakinidir. Ayrıca toprak, su ve yiyecek gibi çeşitli ortamlarda bulunabilmektedir (Savage, 1977).

Bağırsak Florası: *E. coli*, insanların ve diğer memelilerin bağırsaklarında normal flora olarak bulunabilmektedir. Bağırsak florasında *E. coli*, sindirim süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Sindirim sistemindeki diğer mikroorganizmalarla etkileşim halinde olarak sindirimde yardımcı olur ve bazı vitaminlerin sentezlenmesine katkıda bulunmaktadır (Savage, 1977).

Çevresel Ortamlar: *E. coli*, dışkı ile kontamine olmuş su, toprak ve yiyeceklerde bulunabilmektedir. Bu ortamlarda *E. coli*'nin varlığı, fekal kirlenme göstergesi olarak kullanılmaktadır. *E. coli*'nin doğal habitatları arasında tatlı su kaynakları ve denizler de bulunmaktadır (Riley ve ark., 1983).

Su ve Gıda Güvenliği: *E. coli*, gıda kaynaklı hastalıkların yaygın bir nedeni olabilmektedir. Bazı *E. coli* suşları, gıda zehirlenmelerine neden olan enterotoksinler veya diğer patojenik faktörler üretebilmektedir. *E. coli* O157:H7 gibi bazı patojenik suşlar, ciddi bağırsak enfeksiyonlarına ve hemolitik üremik sendrom gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir (Kaper ve ark., 2004).

2.2.5 Patojenik Suşlar

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC): Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına neden olan patojenik bir suştur. EHEC'nin en yaygın serotipi *E. coli* O157:H7'dir. EHEC suşları, shiga toksini adı verilen güçlü toksinleri üretmektedir. Bu toksinler, bağırsak hücrelerine zarar vererek kanlı ishal, hemolitik üremik sendrom (HÜS) gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir (Nataro ve Kaper, 1998).

Enteropatogenik *E. coli* (EPEC): Enteropatogenik *E. coli* (EPEC), özellikle bebeklerde ve küçük çocuklarda ishalin yaygın bir nedenidir. EPEC suşları, bağırsak hücrelerine yapışarak zonula okludens adı verilen bağlantılar arasındaki yapıyı bozmaktadır. Bu durum, bağırsak emilimini etkileyerek ishale yol açmaktadır (Liberatore ve ark., 2011).

Enteroadgregatif *E. coli* (EAEC): Sadece insanlarda bulunmaktadır. Doku kültürü hücrelerini toplayan fimbriyalara sahip oldukları için bu şekilde adlandırılan EAEC, bağırsak mukozasına bağlanarak ateşsiz sulu ishale neden olmaktadır. ETEC'e benzer bir hemolizin ve Shiga Toksin (ST) üretmektedirler. EAEC'in trimetoprim-sülfametoksazol ve ampisiline önemli bir dirence sahip olduğu gösterilmiştir (Abe ve ark., 2001).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC): EIEC yalnızca insanlarda bulunmaktadır. EIEC enfeksiyonu, bol ishal ve yüksek ateşle Shigellosis ile aynı olan bir sendroma neden olmaktadır. Moleküler tiplleme yoluyla EIEC virülans faktörlerini karakterize etmek için çok az çalışma yapılmasına rağmen, bunların *Shigella* türlerindekiyle hemen hemen aynı olduğu varsayılmaktadır (Kaper ve ark., 2004).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC): *E. coli*'nin patojenik suşları, çeşitli toksinler ve yapışma faktörleri üreterek bağırsak enfeksiyonlarına ve ishale neden olmaktadır. Bu suşlar, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından önemli bir sorun teşkil etmektedir (Kaper ve ark., 2004).

2.2.6 Su Ortamında *E. Coli*

E. coli suyun mikrobiyolojik kalitesinin göstergesi olarak kullanılmaktadır. Genellikle *E. coli*, sindirimde hayati bir rol oynar ve vücudun önemli vitaminleri

gıdalardan emmesine yardımcı olur. *E. coli*'nin birkaç suşu vardır ve bu suşların çoğu insan dostudur ancak çok azı *E. coli* 0157: H7 gibi insanlar için patojeniktir. *E. coli* 0157: H7 idrar yolu enfeksiyonu, menenjit ve ishal gibi çeşitli bağırsak ve ekstra bağırsak enfeksiyonlarına neden olur (Cherubin ve ark., 1981; Sussman, 1997; Nagulapally, 2007).

E. coli, dışkı ile kontamine olmuş su ortamlarında yaygın olarak bulunabilmektedir. Bu dışkı kirlenmesi, kanalizasyon sızıntıları, tarım faaliyetleri veya hayvansal atıklar gibi çeşitli kaynaklardan meydana gelebilmektedir. *E. coli*, tatlı su kaynakları, nehirler, göller ve denizler gibi çeşitli su ortamlarında bulunabilmektedir (Kistemann ve ark., 2002).

Su ortamında *E. coli*, çeşitli faktörlere bağlı olarak hayatta kalma süresi değişebilmektedir. Sıcaklık, güneş ışığı, pH seviyesi ve diğer mikroorganizmaların varlığı, *E. coli*'nin su ortamında hayatta kalma süresini etkileyen faktörler arasındadır. Sıcaklık ve güneş ışığı, *E. coli*'nin çevresel koşullara bağlı olarak daha kısa sürede inaktive olmasına neden olabilmektedir (Mieszkin ve ark., 2009).

E. coli, su ortamlarında bir su kalitesi göstergesi olarak kullanılmaktadır. Su kaynaklarından insan tüketimine yönelik olarak kullanılan sularda *E. coli* varlığı, suyun dışkı kirlenmesine maruz kalıp kalmadığını gösteren bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Su kalitesi standartları ve yönergeleri, *E. coli* konsantrasyonu ile ilgili limitleri belirleyerek suyun güvenli tüketimi için önlemler alınmasına yardımcı olmaktadır (WHO, 2017).

E. coli'nin su ortamında varlığı, hayatta kalma süresi ve su kalitesi göstergesi olarak kullanımı, birçok çalışmada incelenmiştir. Bu kaynaklar, su ortamındaki *E. coli*'nin önemini ve su güvenliğiyle ilgili endişeleri vurgulamaktadır.

Su ortamında dirençli *E. coli*'nin hastane atık suları, kanalizasyon, deniz, okyanus ve nehirler gibi farklı su kaynaklarından izole edildiği bildirilmiştir. Bu bir halk sağlığı sorunudur, çünkü *E. coli* bağırsak ekosisteminden gelen mikroplarla çevresel kirlenme için bir göstergedir (Hamelin ve ark., 2007; Wambugu, 2016). Su ortamında antimikrobiyal dirence katkıda bulunan faktörler, yeni dirençlerin ortaya çıkmasında rol oynayan ana unsur kliniklerde aşırı antibiyotik kullanımınıdır. Daha yeni kanıtlar, nehirler ve akarsular gibi yaşam ortamlarının antibiyotik direncinin yayılması

için ideal ortamlar olduğunu göstermektedir. Burada, antibiyotik direnç genlerini barındıran bakterilerin yayılması nehir boyunca mekansal olarak gerçekleşebilir. Dahası, bu bakterilerin çevrede dağılması, otokton (dışardan etkilenmeksizin kendi içinden gelişen) mikrobiyota ile etkileşimi kolaylaştırarak antibiyotik dirençlerinin evrimi için yeni senaryolar yaratır (Lupo ve ark., 2012; Wambugu, 2016). Endüstriyel kirliliğe bağlı ağır metallerin ve katyonların varlığı ile birlikte seçilen ÇİD suşları bilinmektedir (Baker-Austin ve ark., 2006; Wambugu, 2016).

Son on yılda, *E. coli*'nin farklı türleri ve çoklu antibiyotik dirençli determinantları taşıyan enterobakterileri kliniklerde ve toplumda ciddi enfeksiyon problemlerine sebep olmaktadır (Savard ve Perl, 2012; Otazo, 2019). Enterobakteriler, geniş spektrumlu beta-laktamaz üretir. Dünya çapında dağıtılmış CTX-M grubu enzimler gibi genişletilmiş spektrumlu β - laktamazlar (GSBL'ler) üreten enterobakteriler özellikle endişe vericidir ve ayrıca insan, hayvan ve çevresel örneklerden izole edildiği için pandemik olarak kabul edilir (Pitout ve Laupland, 2008; Abdel-Moein ve Samir, 2014; Guzman-Otazo ve ark., 2019).

2.2.7 *E. coli*'de Antimikrobiyal Direnç

Escherichia coli'deki çoklu ilaç direnci, dünya çapında insan ve aynı zamanda veterinerlikte giderek daha fazla gözlemlenen endişe verici bir konu haline gelmiştir. *E. coli*, klinik olarak ilgili hemen hemen tüm antimikrobiyal ajanlara karşı doğal olarak duyarlıdır, ancak bu bakteri türü, çoğunlukla yatay gen transferi yoluyla direnç genlerini biriktirme konusunda büyük bir kapasiteye sahiptir. *E. coli*'deki en problemler mekanizmalar; geniş spektrumlu β -laktamazlar (geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç sağlayan), karbapenemazlar (karbapenemlere direnç sağlayan), 16S rRNA metilazlar (aminoglikozitlere pan-direnç sağlayan), plazmid aracılı kinolon direnci (PAKD) genleri ([fluoro]kinolonlara direnç sağlayan) ve *mcr* genleri (polimiksinlere direnç sağlayan) için kodlama yapan genlerin edinilmesi karşılık gelmektedir. Karbapenemaz genlerinin yayılması esas olarak insanlarda fark edilmiş ancak hayvanlarda yeterince tanınmamış olsa da, *E. coli*'deki kolistin direnci daha ziyade küresel ölçekte kolistin kullanımıyla ilişkili görünmektedir (Poirel ve ark., 2020).

Doğrudan temas, hayvan dışkı ile temas veya besin zinciri gibi çok sayıda yolla hayvanlar ve insanlar arasında virüsent ve/veya dirençli *E. coli*'nin olası bir bulaşması büyük endişe kaynağıdır. *E. coli* ayrıca hem insan hem de veterinerlik

tıbbındaki tedavi başarısızlıklarından sorumlu olabilecek direnç genlerinin önemli bir rezervuarını temsil etmektedir. Enterobakteriyel gen havuzunda, *E. coli* direnç genlerinin hem vericisi hem de alıcısı olarak hareket eder ve böylece diğer bakterilerden direnç genleri alabilir, ancak aynı zamanda direnç genlerini diğer bakterilere aktarabilir. *E. coli*'deki antimikrobiyal direnç, hem insanlarda hem de hayvanlarda dünya ölçeğinde en büyük zorluklardan biri olarak kabul edilmekte ve gerçek bir halk sağlığı sorunu olarak değerlendirilmektedir (Poirel ve ark., 2020).

2.2.7.1 Beta-Laktam antibiyotikler ve direnç mekanizmaları

Beta-laktam antibiyotikler en önemli klinik antibiyotik sınıfıdır. Geniş spektrumlu aktiviteleri ve düşük seviyeli toksisiteleri nedeniyle en yaygın kullanıma sahip antibiyotiklerdir. β -laktam aktivitesi, bakteri hücre duvarlarının murein tabakası üzerinde olup, çapraz bağlanmadan sorumlu transpeptidaz ve terminal D-alanini uzaklaştıran D-alanin karboksipeptidazın kovalent olarak bağlanması yoluyla murein iplikleri arasındaki çapraz bağlanmanın kesilmesiyle gerçekleşir (KONG ve ark., 2010).

β -laktamlara direnç, β -laktam halkasının β -laktamaz tarafından enzimatik yolu ile ortaya çıkmaktadır (Bush ve Jacoby, 2010; Hill, 2016). *E. coli*'de β -laktamlara direnç kazandıran çok sayıda gen de bulunmaktadır (Poirel ve ark., 2020).

β -laktamları; iki ayrı sınıflandırma yapılmıştır. Ambler A, B, C ve D sıralamasına göre sınıflandırmasını yapmış, ikincisi ise Bush ve Jacoby tarafından grup 1, grup 2 ve grup 3 şeklindeki sınıflandırmayı oluşturmuşlardır.

Birinci sınıflandırmaya göre; A sınıfı β -laktamazlar esas olarak penisilin ve ampisilinin enzimatik bölünmesinde rol oynamaktadır. Ayrıca sefalosporinlerin çoğunu hidrolize edebilirler, ancak çoğu belirli bir alt kümenin hidrolizini gerçekleştirmektedir (Hall ve Barlow, 2004). İki değerlikli bir metal iyonu (genellikle Zn^{2+}) gerektirmesi nedeniyle metallo-b-laktamazlar olarak adlandırılan B sınıfı β -laktamazlar, serin- β -laktamazlar (A, C ve D sınıfları) yapısal olarak ilişkili değildir ve aktif bölge serin aracılığıyla bir açıl enzimi oluşturarak substratları hidrolize etmek yerine bu, aktif bölge çinko iyonunu kullanarak b-laktam hidrolizini kolaylaştırmaktadır (Bush ve Jacoby 2010). C sınıfı enzimler genellikle AmC b-laktamazlar olarak adlandırılır ve sefalosporinlere karşı çok geniş bir aktivite spektrumuna sahiptirler. D Sınıfı enzimler,

A sınıf β -laktamazlar gibi, birincil olarak penisilinazlardır, ancak oksasilin, kloksasilin, metisilin ve karbenisilin hidrolize edilmesinde rol oynarlar (Naas ve Nordmann, 1999).

İkinci sınıflandırmaya göre; grup 1 (tüm C Sınıf) sefalosporları, grup 2 (Sınıf A ve D) geniş spektruma, inhibitör direncine ve geniş spektruma sahip β -laktamazlara (GSBL) serin karbapenemazlara ve metallo- β -laktamalarından oluşan grup 3'ye göre oluşturmaktadır. Grup 1 sefalosporinazlar, birçok *Enterobacteriaceae* tarafından, kromozomal olarak kodlanmış β laktamazlardır. Grup 1 β -laktamazların en yaygın plazmid aracılı alt grubu, *bla*_{CMY}, *bla*_{ACT}, *bla*_{DHA}, *bla*_{FOX} ve *bla*_{MIR}'dir (Jacoby ve Munoz, 2005).

Grup 2 serin β -laktamazlar (sınıf A ve D) en büyük β -laktamaz grubudur. En sık bulunan plazmid aracılı β -laktamazlar olan GSBL direnç genlerini içermektedirler (Jacoby ve Munoz, 2005). TEM- ve SHV-GSBL'ler 1980'lerde ilk tanımlanan GSBL'ler arasındaydı ve 2000 yılına kadar baskın durumdaydılar. O zamandan beri, CTX-M-GSBL'ler ortaya çıkmış ve ağırlıklı olarak dünya çapında insan ve hayvan kaynaklı kommensal ve patojenik GSBL üreten *E. coli* izolatlarında tanımlanmıştır (Karim ve ark., 2001; Pitout ve ark., 2005). GSBL genleri *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} çok çeşitli diğer varyant genleri *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-14}, *bla*_{TEM-52} ve *bla*_{SHV-12} ile birlikte en yaygın olanlar olarak tanımlanmıştır (EFSA, 2011).

Grup 3 metalo- β -laktamazlar yapısal ve işlevsel olarak Grup 1 ve Grup 2 β -laktamazlardan ayrıdır. Karbapenemleri hidrolize etme kapasitesi başlangıçta bu grubun tanımlayıcı özelliği idi, ancak bu antibiyotikleri hidrolize edebilen bazı serin β -laktamazlar da mevcut olduğu anlaşılmıştır. Grup 3 metalo- β -laktamazlar, monobaktamları etkili bir şekilde hidrolize edemezler ve klavulanik asit veya tazobaktam tarafından inhibe edilmezler, ancak EDTA gibi metal iyonlarını bağlayan moleküller tarafından inhibe edilebilmektedirler (Marchiaro ve ark., 2008). Metallo- β -laktamazların orijinal keşfi, patojenik olmayan organizmalarda buldukları ve kromozomda kodlandıkları için endişeye neden olmadı, ancak 1990'larda plazmitler ve transpozonlar üzerinde *bla*_{VIM} ve *bla*_{IMP}'nin mobilizasyonu, bu direnç genlerinin klinik olarak ilk endikasyonun göstergesiydi (Cornaglia ve ark., 2011).

2.2.7.2 Aminoglikozid Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları

Aminoglikozid antibiyotiklerin kullanımı öncelikle Gram-negatif aerobik basiller, stafilokoklar ve diğer Gram-pozitif bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (Ramirez ve Tolmasky, 2010). Sepsis, pnömoni, menenjit ve idrar yolu / karın enfeksiyonları gibi karmaşık enfeksiyonların tedavisinde hızlı bakterisidal etkilerinden yararlanmak için genellikle başka bir antibiyotikler (çoğunlukla bir β -laktam) ile birlikte kullanılmak (Poirel ve ark., 2020). Aminoglikozid direnci yaygın olarak görülmekte ve bu antibiyotiklere karşı direncin küresel olarak yayılması, onları bazı enfeksiyonların tedavisinde neredeyse yararsız hale getirmektedir (Hill, 2016).

Hedef Modifikasyonları ile Aminoglikozidlere Direnç: Aminoglikozidlere direnç, 16S RNA ve/veya S5 ve S12 ribozomal proteinlerini içeren hedef mutasyonlarla gelişebilmektedir (Fourmy ve ark., 1998; Llano-Sotelo ve ark., 2009; Poirel ve ark., 2020).

Aminoglikozitlerin hedef bölgesinin modifikasyonu, 16S RNA'nın A bölgesinin metilasyonu ile de elde edilebilmekte ve bu da amikasin, tobramisin, gentamisin ve netilmisine karşı yüksek düzeyde dirençle sonuçlanmaktadır (Griffey ve ark. 1999). 16S rRNA veya ribozomal protein mutasyonu yolu ile, düşük aktiviteye sahip bir asetiltransferaz 16S rRNA'nın metilasyonu, dış membran modifikasyonu yoluyla geçirgenlikte azalma veya iç membran taşınmasında dışa akış yoluyla kaldırılması ve düşük aktiviteye sahip bir asetiltransferaza bağlanma yoluyla ilaç sekestrasyonunu içeren mekanizmalarla mevcuttur (Galimand ve ark., 2005).

Enzimatik İnaktivasyon Yoluyla Aminoglikozidlere Karşı Direnç: Aminoglikozitlerin inaktivasyonu, molekülleri hedef bölgeye ulaşamayacak veya bağlanamayacak hale getirecek şekilde modifiye eden enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir. Aminoglikosit modifiye enzimler, 2 deoksistreptamin çekirdeğinin veya şeker kısımlarının OH veya NH_2 gruplarını modifiye ederek farklı etki tarzlarına sahiptir. Üç farklı tipte aminoglikozid modifiye edici enzimler vardır: fosfotransferazlar, nükleotidiltransferazlar ve asetiltransferazlar (Ramirez ve Tolmasky 2010).

Aminoglikozit asetiltransferazlar, aminoglikozit yapısının 1, 2, 3 veya 6. pozisyonlarında bir asetil grubunun (CH_3CO) bir amin grubuna ($-\text{NH}_2$) eklenmesini

katalize eder ve bu da enzimin alt grubunu belirlemektedir (Ramirez ve Tolmasky 2010).

Aminoglikozitler arasında nükleotidiltransferazlar en yaygın olarak Gram-negatif bakterilerde bulunmaktadır. *aadB* ve *aadA* genleri tarafından kodlanmakta ve her ikisi de sıklıkla sınıf 1 integronlardaki gen kasetlerinde bulunmaktadır (Ramirez ve Tolmasky 2010).

Aminoglikozid fosfotransferazlar, sırasıyla *strA* ve *strB* genleri tarafından kodlanır ve dünya çapında *E. coli*'de en yaygın olarak karşılaşılan dirençtir. Streptomisine karşı dirence aracılık ederler ve sıklıkla, bazen kanamisin direncine aracılık eden *aph(3'')-I/II* genleri ile birlikte benzersiz bir mobil element ile ilişkilidirler (Poirel ve ark., 2020).

2.2.7.3 Kinolon ve Florokinolon Antibiyotikleri ve Direnç Mekanizmaları

Kinolonlar ilk olarak 1962'de keşfedilmiştir (Leshner ve ark., 1962; Hill, 2016). Bunlar geniş spektrumlu antibiyotiklerdir ve çoğunlukla gram-negatif patojenler nedeniyle oluşan idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır ve insan enfeksiyonlarının tedavisinde önemli antibiyotikleri olarak geçmektedir. Yaygın kullanımları nedeniyle çok çeşitli direnç mekanizmaları tanımlanmaktadır. Florokinolonlar, hem Gram pozitif hem de Gram negatif enfeksiyonları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Jacoby ve Munoz, 2005; Hill, 2016). Bu antibiyotiklere karşı direnç genellikle ilaç hedeflerindeki mutasyonlardan, yani DNA giraz ve topoizomeraz IV genlerinden kaynaklanmakta, ancak dış membranın geçirgenliğinin azalması, hedef yapıların korunması veya yukarı doğru düzenlenmiş efluks pompaları gibi diğer mekanizmalar da rol oynayabilmektedir (Hopkins ve ark. 2005).

Kromozomal Hedef Bölge Mutasyonları ile (Floro)Kinolonlara Direnç: *E. coli*'de (floro)kinolonların birincil hedefi, iki GyrA alt birimi ve iki GyrB alt biriminden oluşan girazdır. Topoizomeraz IV, Gram-negatif bakterilerde ikincil bir hedef oluşturmaktadır. Bu enzim iki ParC ve iki ParE alt biriminden oluşmaktadır. Mutasyonların çoğu, GyrA'da Ala67 ve Gln107 arasında bulunan kinolon direncini belirleyen bölgede bulunmakta ve mutasyonlar en sık 83 ve 87 kodonlarında meydana gelmektedir. *gyrA* genindeki tek mutasyonlar kinolonlara direnç kazandırabilmekte,

ancak florokinolonlara direnç için *gyrA* ve/veya *parC* içinde daha fazla mutasyon gerekmektedir. Çoğu *parC* mutasyonu 80 ve 84 kodonlarında meydana gelir (Hopkins ve ark. 2005). Giraz ve topoizomeraz IV, replikasyon, transkripsiyon, rekombinasyon ve DNA onarımında birlikte çalışmaktadır. Kinolon direnci, kinolon bağlanma afinitesini azaltan su-metal iyon köprüsündeki serin veya asidik amino asit kalıntısının modifikasyonları yoluyla giraz / topoizomerazın bağlanmasını önlemektedir. Bu amino asit ikamelerinin konumu, kinolon direnci belirleme bölgesi olarak adlandırılmaktadır (Cabral ve ark., 1997; Hill, 2016).

Çıkış Pompa Mekanizması ile (Floro)Kinolonlara Direnç: *E. coli*'deki çıkış aracılı direnç, *AcrR* gen pompa aktivitesinde artan mutasyonlara sahip AcrAB-TolC çıkış pompası tarafından aracılık etmektedir (Wang ve ark., 2001). Mutasyonlar, *marR*'yi etkisiz hale getirerek, *acrAB* ve *tolC*'nin aktivasyonunun artmasına neden olmakta, bu da *ompF* geninin translasyonunu azaltarak, nihayetinde akışı azaltmakta ve kinolon akışını arttırmaktadır (Alekhun ve Levy, 1997; Hill, 2016).

Plazmid Kaynaklı Direnç Mekanizmaları ile (Floro)Kinolonlara Direnç: İlk plazmid aracılı kinolon direnci (PAKD) belirleyicisi olan *qnrA1*'in 1997'de tanımlanmasından bu yana, PAKD genlerinin küresel yayılımı konusunda ciddi endişeler bulunmaktadır. (i) DNA'yı kinolon bağlanmasından koruyan *Qnr* benzeri proteinler (QnrA, QnrB, QnrC, QnrD ve QnrS), (ii) siprofloksasin ve enrofloksasin gibi belirli florokinolonları modifiye eden AAC (6')-Ib-cr asetiltransferaz ve (iii) aktif eflüks pompaları (QepA ve OqxAB) dahil olmak üzere çeşitli plazmid kodlu direnç mekanizmaları tanımlanmaktadır. Genel olarak, bu direnç belirleyicileri kinolonlara (veya florokinolonlara) karşı yüksek düzeyde direnç sağlamamakta, daha ziyade bu antimikrobiyal ajanlara karşı daha az duyarlılık sağlamaktadır. Bununla birlikte, kromozomal olarak kodlanmış ek mekanizmalar yoluyla daha yüksek direnç seviyeleri sergileyen izolatların seçimine katkıda bulunabilmektedir (Rodríguez-Martínez ve ark., 2016; Poirel ve ark., 2020).

2.2.7.4 Makrolid Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları

Makrolid antibiyotikler öncelikle, üst solunum yolu enfeksiyonlarının ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Penisiline alerjik reaksiyonu olan hastaların tedavisinde özellikle yararlanılmaktadır Keşfedilen ilk makrolid antibiyotik, eritromisin ilk olarak 1950'lerin başında kullanılmakta ve WHO

tarafından insan tıbbı için kritik öneme sahip antibiyotikler olarak listelenmektedir (Lewis, 2013).

Ketolidler, 14 üyeli eritronolid A halkasının 3 pozisyonunda α -L-kladinoz parçasının ikame edilmesiyle sentezlenmekte bu da daha fazla asit stabilitesi sağlamakta ve direnci önlemektedir (Douthwaite ve Champney, 2001). Makrolid antibiyotikleri, protein translasyonunu bloke eden ribozomun 50S alt birimine tersine çevrilebilir şekilde bağlanarak işlev görmektedir (Sturgill ve Rapp, 1992). Ketolidler, 23S rRNA'ya bağlanarak makrolid dirençli bakterilere bağlanmayı sağlamaktadır (Zuckerman, 2004; Hill, 2016)

Makrolid direnci genellikle metilasyon veya mutasyon yoluyla ribozomal modifikasyon, çıkış pompası ve ilaç inaktivasyonu gibi mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşmektedir. Ribozomal hedefin metilasyonu en yaygın direnç mekanizmasıdır ve 1956 yılında eritromisinin kliniğe girmesinden kısa bir süre sonra ortaya çıkan ilk tespit edilen dirençtir (Leclercq, 2002). Erm proteinleri, sonuç olarak makrolid antibiyotiklerin bağlanmasını önleyen 23S ribozomal alt biriminde önemli bir adenin kalıntısını dimetile ederek yaklaşık 40 farklı *erm* geninin tanımlanmasını sağlamakta, bu direnç ve işlev tarzından sorumludur (Roberts ve ark., 1999). Makrolid antibiyotiklerin çıkış pompası Gram negatif bakterilerde öncelikle RND pompaları, Grampostif bakterilerde ise ABC ve MFS pompaları aracılığıyla gerçekleşmektedir (Leclercq, 2002; Hill, 2016).

2.2.7.5 Tetrasiklin Antibiyotikleri ve Direnç Mekanizmaları

Tetrasiklinler 1940'larda keşfedilmiştir. Etki mekanizması, protein sentezini engellemek için aminoasil-tRNA'nın mRNA-ribozom kompleksine bağlanmasının inhibisyonu yoluyla gerçekleşmektedir. Etki şekline bakılmaksızın, tetrasiklinler, geniş aktivite spektrumları ve sınırlı yan etkileri nedeniyle (klinikte kullanılan bakteriyostatik konsantrasyonlardan) hem klinik hem de veterinerlik tıbbında yaygın olarak kullanılmaktadır (Chopra ve Roberts 2001). Hayvansal kaynaklı *E. coli*'de karşılaşılan başlıca tetrasiklin direnci mekanizmaları arasında (1) majör kolaylaştırıcı süper ailesinin proteinleri tarafından aktif akış ve (2) ribozom koruması yer almaktadır (Poirel ve ark., 2020).

Tetrasiklinlerin yaygın kullanımının yarattığı seçici baskının bir sonucu olarak, *E. coli* de dahil olmak üzere birçok bakteri tetrasiklin direnci geliştirmiştir. Tetrasiklin

direnç genleri etki ettikleri mekanizmalara göre, dokuz tetrasiklin çıkış pompası geni [*tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*, *tet(J)*, *tet(L)* ve *tet(Y)*], *E. coli*'de ribozom koruyucu proteinleri [*tet(M)* ve *tet(W)*] kodlayan iki tetrasiklin direnç geni ve tetrasiklinleri inaktive eden bir oksidoredüktaz [*tet(X)*] kodlayan bir gen tanımlanmıştır (Poirel ve ark., 2020).

2.2.7.6 Polimiksin Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları

Kolistin (polimiksin E olarak da bilinir), Gram-negatif bakterilerin dış membranındaki LPS'yi hedef alan bir polipeptit antibiyotiklerdir. Kolistin, *E. coli* de dahil olmak üzere çeşitli Enterobacteriaceae türlerine karşı aktifken, *Proteus spp.* ve *Serratia spp.* gibi diğerleri doğal dirençlidir. Kolistine karşı direnç, kromozomal genlerdeki mutasyonlara veya edinilmiş direnç genlerine bağlı olabilmektedir (Poirel ve ark., 2017). Çoklu ilaca dirençli (ÇİD) Gram-negatif bakterilerin küresel olarak yayılması nedeniyle, polimiksinler son çare antibiyotikler olarak son zamanlarda çok ilgi görmektedir (Hill, 2016). Mikrobiyolojik olarak inaktif olan ancak inhalasyondan sonra aktif hale gelen kolistin sülfat ve CMS (kolistin metansülfat, kolistin sülfonil metat, penta-sodyum kolistimetansülfat) olmak üzere iki tür kolistin mevcuttur (Li ve ark., 2006).

Polimiksinler, Gram-negatif bakterilerin dış zarına bağlanarak etki etmektedirler. Polimiksinlerin bağlanması, zarın bozulmasına ve lipopolisakkaridin (LPS) salınmasına neden olmaktadır (Peterson ve ark., 1985). Bakteriler tarafından kullanılan direnç mekanizmaları arasında, fosfoetanolamin (PEtN) ve 4-amino-4-deoksi-L-arabinoz (L Ara4N), deasilasyon ve hidroksilasyonu lipid A grubunun kovalent modifikasyonu yoluyla LPS'nin modifikasyonunu içermektedir (Raetz ve ark., 2007). *E. coli* izolatlarındaki polimiksin direnci LPS-modifiye edici enzimleri kodlayan genlerle ilişkili olabilmektedir. *pmrCAB* operonu, bir fosfoetanolamin fosfotransferaz PmrC, bir yanıt regülatörü PmrA (BasR olarak da adlandırılır) ve bir sensör kinaz proteini PmrB (BasS olarak da adlandırılır) olmak üzere üç proteini kodlamaktadır (Poirel ve ark., 2017).

Kasım 2016'da, plazmid kaynaklı ilk polimiksin direnç geni olan *mcr-1* tanımlanmış ve fosfoetanolamin transferazı kodlamaktadır (Liu ve ark., 2016). *mcr-1* üretimi, LPS'nin lipid A kısmının modifikasyonuna yol açarak daha katyonik bir LPS ve sonuç olarak polimiksinlere karşı dirençle sonuçlanmaktadır (Poirel ve ark., 2017).

2.2.7.7 Sülfonamid ve Trimetoprim Antibiyotikleri ve Direnç Mekanizmaları

Sülfonamidler ve trimetoprim, folik asit sentez yolundaki farklı basamakları inhibe eden sentetik antibiyotiklerdir. Sülfonamidler ilk olarak 1930'larda tanıtılmakta ve hem klinik hem de veterinerlik tıbbında kullanılmaktadır. Sülfonamid etkisi, r-amino-benzoik asit bağlayıcı dihipteroat sentazın (DHPS) yapısal bir analogu olarak hareket eden alternatif substrat bağlanması yoluyla gerçekleşmektedir. DHPS, dihidrofolik asit oluşturmak için folik asit biyosentez yolunda rol oynar, dolayısıyla DHPS'nin bağlanması bu oluşumu engellemektedir (Sköld, 2000).

Sülfonamidlere Karşı Direnç: *E. coli*'de sülfonamid direnci üç *sul* genlerinden herhangi biri aracılık etmektedir: *sul1*, *sul2* veya *sul3*. *sul1* geni özellikle yaygındır çünkü sınıf 1 entegronların 3'-korunmuş segmentinin bir parçasıdır. Bu nedenle, *sul1* geni genellikle sınıf 1 entegronların değişken kısmındaki gen kasetlerinde bulunan diğer antimikrobiyal direnç genleriyle birlikte bulunmaktadır (Recchia ve Hall, 1995). *sul1* genini içeren Sınıf 1 entegronlar genellikle GSBL geni taşıyan çoklu direnç plazmidleri de dahil olmak üzere plazmidler üzerinde bulunmaktadır (van Essen-Zandbergen ve ark., 2009). *sul2* geni *E. coli*'den RSK10010 üzerinde tanımlanmıştır ve direnç plazmidleriyle ilişkilendirilmiştir. *sul2* geni genellikle streptomisin direnç genleri *strA-strB* ile bağlantılıdır (Kikvi, 2007 #168). *sul3* geni ilk olarak 2003 yılında domuzlardan izole edilen *E. coli* suşlarından tanımlanmıştır (Perreten ve Boerlin, 2003).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada, 12.07.2019-15.10.2019 tarihleri arasında Muş ilinde tarımsal sulamada kullanılan Murat Nehri (M), Karasu Çayı (K), Gölet Yurt (GY) ve Gölet Balık (GB) lokasyonlarından su numuneleri alındı ve su numunelerinden *E. coli* suşları izole edildi.

3.1 Su Örneklerinin Alınması

Su örnekleri, Murat Nehri (M) için tarihi Murat Köprüsü ayakları yakınından, Karasu Çayı (K) için Muş-Bitlis karayolu D-955 ile Karasu Çayının kesiştiği bölgeden, Gölet Yurt (GY) için Muş ili şehir merkezine yaklaşık 8 km uzaklıkta Güzeltepe mahallesinde bulunan sulama göletinden ve Gölet Balık içinde (GB) Muş Alparslan Üniversitesi kampüsü içerisinde bulunan göletten “Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Numune Alma ve Analizi Metodları Tebliği” ne göre toplam 54 su numunesi alındı. Mikrobiyolojik analizler için steril kaplarda alınan numuneler +4°C’de 2 saat içerisinde laboratuvara getirildi.

3.2 Su Örneklerinin Filtrasyonu

Laboratuvara getirilen 54 su numunesi, membran filtrasyon yöntemi kullanılarak filtrasyon işlemine tabi tutuldu (Şekil 3.1). Her bir su numunesi steril membran filtrasyon cihazında 0,45 µm’ lik gözenek çaplı membran filtreden süzdürüldü, steril pens ile filtre kağıdı alınarak Chromogenic Coliform Agar (CCA) üzerine filtrenin altında hava kabarcığı kalmayacak şekilde yerleştirildi. İki kromojenik substrat içeren CCA besiyeri *E. coli*’nin %96’sı için spesifiktir. Bu besiyerindeki kromojenik substratlar, Salmon-GAL kromojenik substratını β-D-galaktosidaz enzimi parçalamakta ve X-Glucuronide substratını ise *E. coli* için karakteristik olan β-D-glukuronidaz enzimi tarafından parçalanarak CCA üzerinde koyu mavi ila mor koloniler olarak görünmektedirler (Turner ve ark., 2000). Bu şekilde hazırlanmış petriyerler 37°C’ de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda koyu mavi-mor renkteki kolonilerden Eosine Methylene Blue Agar (EMB) besiyerine çizgi ekim yöntemi ile aktırıldı ve 35°C’ de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda metalik yeşil renk veren saf koloniler elde edildi. Elde edilen saf koloniler %50 gliserol içerisinde stoğa alınmış ve -20°C’ de muhafaza edildi.



Şekil 3. 1 Membran filtrasyon sistemi ve numuneler

3.3 Koloni PZR

İzole edilen *E. coli* suşları, TSA besiyerinde çizgi ekim yöntemi ile 35°C' de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan tek kolonilerden öze yardımı ile seçilen bir koloni 50 µl distile su içerisinde süspanse edildi. Bu süspanسیونlar PZR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanıldı (Bergkessel ve Guthrie, 2013).

3.4 Agaroz Jel Hazırlanışı ve Elektroforez

% 1' lik agaroz jel hazırlamak için 0.5 g agaroz tartılarak 50 ml 1X Tris Base - Borik asit - EDTA (TBE) elektroforez tamponun içerisine eklendi. Jel mikrodalga fırında ~ 2 dakika çözünmesi sağlandı. Çözünme işleminden sonra oda sıcaklığında soğutularak sıcaklığın ~ 40°C' ye düşürülmesi sağlanıp içerisine % 4' lük olacak şekilde 2 µL Etidyum bromit (EtBr) çözeltisi eklenip karıştırıldı. Önceden hazırlanmış ve taracları yerleştirilmiş elektroforez küvetine jel hava kabarcığı olmayacak şekilde yavaşça dökülerek ve 25-30 dakika katılaşması için bekletildi. Katılaştıran jelden taraclar dikkatlice çıkartılarak küvet elektroforez tankının içerisine yerleştirildi. PZR cihazından alınan örnekler yükleme boyası (loading dye) eklenerek mikropipet ile taracların

oluşturmuş olduğu jel kuyucuklarına yüklendi. 120 V' da 20 dakika elektroforez cihazında yürütüldü. Markör olarak Genmark Gen-100 DNA Ladder 100-3000 bp LC kullanıldı. Yürütülme işleminden sonra agaroz jel Canon G11 Jel Görüntüleme cihazına yerleştirilerek UV ışık altında 365 nm dalga boyunda fotoğrafları çekildi. Bu çalışmada agaroz jel elektroforezi yöntemi *uidA* gen bölgesi taranması, RAPD PZR ve plazmit izolasyonu testlerinin ürünlerini yürütmede kullanıldı.

3.5 İzole Edilen Suşlarda *uidA* Gen Bölgesinin Taranması

Elde edilen saf kolonilerin *E. coli* olduğunu PZR yöntemi ile doğrulamak için *uidA* gen bölgesine spesifik olarak tasarlanan UAL-1939 (5'-TATGGAATTCGCCGATTTT-3') ve UAR-2105 (5'-TGTTTGCCTCCCTGCTGCGG-3') primerleri kullanıldı. PZR tüplerine Çizelge 3.1 'te yer alan bileşenler karıştırılmıştır. PZR cihazında Çizelge 3.2'deki reaksiyon koşulları oluşturuldu. *E. coli* tespiti için en yaygın kullanılan substrat, 4 metilumbelliferil β -D-glukuronidi (MUG) parçalayan β -D glukuronidaz (GUD) enziminin varlığına dayanmaktadır. GUD, *E. coli*'de *uidA* geni tarafından kodlanan indüklenebilir bir enzimdir (Martins ve ark., 1993).

Çizelge 3. 1 *uidA* gen bölgesi taranma PZR bileşenleri

PZR Bileşeni	Miktar (μ L)
dH ₂ O	11,4
Primer R	0,6
Primer F	0,6
Taq Buffer	2
MgCl ₂	1,3
dNTP	2
Taq Polimeraz	0,1
Kalıp DNA	2
Toplam Reaksiyon Hacmi	20

Çizelge 3. 2 *uidA* gen bölgesi taranma PZR koşulları

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç Denatürasyon	95	5 dk.	1
Denatürasyon	95	1 dk.	
Bağlanma	50	1 dk.	25
Uzama	72	1 dk.	
Son Uzama	72	10 dk.	1
Bekleme	4	Hold	-

PZR ürünleri %1 lik agaroz jelde Thermo Fisher SM 0311 marker eşliğinde yürütüldü ve ~ 200 bp büyüklüğünde çoğaltılması beklenen gen bölgesinin varlığı jel üzerinde oluşan bant profilleri incelendi. Gen bölgesi bakımından pozitif olan klonlar *E. coli* olarak kabul edildi.

3.6 RAPD (Randomly Amplified Polimorphic DNAs) PZR Analizi

RAPD analizinde suşlara ait DNA üzerinde rastgele seçilmiş 8-10 bp oligonükleotidin, tesadüfi olarak bağlanarak PZR ile çoğaltma yapıldı. İzole edilen *E. coli* suşlarına ait DNA'lar birçok RAPD primerleri ile deneme yapıldı. Kullanılan RAPD primerleri Çizelge 3.3'te gösterildi. OPA8 (5'-CCTGGGTGGA-3'), OPA29 (5'-AGGGCGTAAG-3'), OPA30 (5'-AAAACCGGGC-3') ve OPA1247 (5'-AAGAGCCCGT-3') RAPD primerlerinin kullanımı ile RAPD-PZR analizi sonucunda bant profilleri gözlemlendi. PZR tüplerine Çizelge 3.4 'te yer alan bileşenler karıştırıldı. PZR cihazında Çizelge 3.5'deki reaksiyon koşulları oluşturuldu. PZR ürünleri %1 lik agaroz jelde Thermo Fisher SM 0333 marker eşliğinde yürütüldü ve ~ 200 bp büyüklüğünde çoğaltılması beklenen gen bölgesinin varlığı jel üzerinde oluşan bant profilleri incelendi.

Çizelge 3. 3 RAPD PZR için denenen primerler

Primer	Sekansı	Bant Profili	Primer	Sekansı	Bant Profili
3P	-CGGGGGATGG-	-	24P	-CAGGCCCTTC-	-
4P	-CTGCTGGCAC-	-	25P	-TCGGCGATAG-	-
5P	-GTGCTCGTGC-	-	27P	-ATCTGCGAGC-	-
7P	-TTACCTGGGC-	-	28P	-ACTTCGCCAC-	-
9P	-GAGCACGGGG-	-	29P	-AGGGCGTAAG-	-
12P	-GCACTGACCT-	-	30P	-AAAACCGGGC-	-
13P	-TTCCCCGCT-	-	31P	-GTAGACCCGT-	-
14P	-GGGCTCGTGG-	-	OPA7	-GAAACGGGTG-	-
15P	-GGGGGCTTGG-	-	OPA8	-CCTGGGTGGA-	+
19P	-GGTGGCGGGA-	-	OPA9	-TCCCACGCAA-	-
20P	-CCGAATTCCC-	-	OPA14	-TGCTGCAGGT-	-
21P	-AGGGGCGGGA-	-	OPA29	-AGGGCGTAAG-	+
23P	-CCCACATTCC-	-	OPA30	-AAAACCGGGC-	+
OPA1247	- AAGAGCCCGT-	+			

Çizelge 3. 4 RAPD PZR bileşenleri

PZR Bileşeni	Miktar (µL)
dH ₂ O	9,4
Primer	1,5
Taq Buffer	2
MgCl ₂	2
dNTP	2
Taq Polimeraz	0,1
Kalıp DNA	3
Toplam Reaksiyon Hacmi	20

Çizelge 3. 5 RAPD PCR reaksiyon koşulları (Suardana vd., 2013).

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç Denatürasyon	95	5 dk.	1
Denatürasyon	95	1 dk.	
Bağlanma	50	1 dk.	25
Uzama	72	1 dk.	
Son Uzama	72	10 dk.	1
Bekleme	7	Hold	-

3.7 Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi

Antibiyotik dirençliliğini belirlemek için izole edilen *E. coli* suşları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) belirtilen disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. Çalışmamızda Ampisilin (AM, 10 µg), Gentamisin (CN, 10 µg), Kloramfenikol (C, 30 µg), Siprofloksasin (CIP, 5 µg), Eritromisin (E, 15 µg), Kanamisin (K, 30 µg), Rifampisin (RA, 5 µg), Sülfametoksazol (SMZ, 300 µg), Tetrasiklin (TE, 30 µg) ve Vankomisin (VA, 30 µg) antibiyotik diskleri kullanıldı.

Bakteri süspansiyonu hazırlamak için 16-24 saat 35°C'de geliştirilen *E. coli* kültürleri steril pepton kullanılarak yaklaşık 10^8 kob/ml olacak şekilde seri dilüsyonlar yapıldı. Steril bir swap yardımı ile bakteri süspansiyonu antibiyotik duyarlılık testi için hazırlandı TSA besiyeri üzerine yayıldı. Petrilerin üzerine uygun aralıklarla antibiyotik diskleri yerleştirildikten sonra 35 ° C'de 24 saat inkübe edildi. Yapılan çalışmanın doğruluğunu göstermek için kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı.

İnkübasyon sonunda oluşan zon çapları mm olarak cetvel yardımı ile ölçüldü. Sonuçlar European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kılavuzundaki *Enterobacterales* ile ilgili değer tablolarına göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) veya dirençli (R) olarak yorumlandı (EUCAST, 2019). Antibiyotik dirençlilik test sonuçlarının yorumlandığı standartlar Çizelge 3.6 'de gösterilmiştir.

Çizelge 3. 6 *Enterobacterales* için zon çapları yorumlama standartları (EUCAST, 2019)

Antibiyotikler	Antibiyotik Konsantrasyonu (µg)	Zon Çapı (mm)		
		R (Dirençli)	I (Orta Duyarlı)	S (Duyarlı)
Ampisilin (AM)	10	<14	-	≥14
Gentamisin (CN)	10	<17	-	≥17
Kloramfenikol (C)	30	<17	-	≥17
Siprofloksasin (CIP)	5	<22	22-24	≥25
Eritromisin (E)	15	<13	14-17	≥18
Kanamisin (K)	30	≤13	14-17	≥18
Rifampisin (RA)	5	≤15	-	≥16
Sülfametoksazol (SMZ)	300	≤10	11-15	≥16
Tetrasiklin (TE)	30	≤14	12-18	≥19
Vankomisin (VA)	30	≤9	10-11	≥12

3.8 Plazmit DNA İzolasyonu

Plazmit DNA izolasyonu için stok solüsyonundaki *E. coli* suşları her birinde 5 ml uygun antibiyotik içeren Luria Bertani (LB) mediumu bulunan tüplere eklendi. Tüpler 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda Sabine Ehrt ve Dirk Schnappinger'in Alkali Lizis ile *E. coli*'den Plazmidlerin İzolasyonu protokolüne göre uygulama gerçekleştirildi (Ehrt ve Schnappinger, 2003). Protokolün basamakları aşağıda açıklandı. İzolasyon sonucunda elde edilen plazmidler %1 lik agaroz jelde yürütülerek görüntülendi.

Protokolün basamakları;

1. 5 ml LB mediumundaki *E. coli* suşları her biri 20 sn boyunca 5000 rpm'de santrifüj edildi.
2. Santrifüj sonunda oluşan süpernatantın 4 ml atılmış. Pellet, 1 ml süpernatant ile çözdürüldü ve steril mikrosantrifüj tüplerine konuldu.

3. Numuneler 2000 rpm'de 2 dk santrifüj yapıldı ve sonunda süpernatant atıldı.
4. Pellet 500 µL STE (sakkaroz/tris/EDTA; %8/50mM(pH:8.0)/50mM (pH:8.0)) bufferi ile çözdürüldü ve 37⁰C'de 20 dk etüvde bekletildi.
5. Süre sonunda etüvden alınan numune tüplerine üzerine 100 µL GTE (glikoz/tris/EDTA; 50mM/25mM(pH:8.0)/10mM(pH:8.0)) buffarı eklendi ve 65⁰C'de 10 dk etüvde bekletildi.
6. Süre sonunda etüvden alınan numune tüplerine 200 µL sodyum hidroksitli SDS tamponu ve 100 µL sodyum asetat tamponu eklendi. 65⁰C'de 10 dk etüvde bekletildi. Etüv sonunda tüpler 5 dk buzda bekletildi.
7. Buzda bekletme işleminden sonra tüplerin üzerine 150 µL HSS (yüksek tuz solüsyonu) eklendi ve tüpler 5 dk buzda bekletildi.
8. Tüpler 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi.
9. Santrifüj edilen numunelerin süpernatant kısmı steril mikrosantrifüj tüplerine alındı. Tüplerin üzerine 500 µL izopropanol eklendi.
10. Tüpler 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
11. Tüplerdeki pellete 100 µL soğuk %96'lık etanol eklendi ve tüpler 2000 rpm'de 3 dk santrifüj edildi.
12. Santrifüj edilen numunelerin süpernatantı atıldı ve pellete 100 µL %70'lık etanol ile çözdürüldü.
13. Numuneler 2000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
14. Santrifüj sonunda numuneler 37⁰C'de 30-60 dk etüvde kurutuldu.
15. Kurutma işleminin sonunda pelletlere 50 ml DNaz-RAaz free steril su ile çözdürüldü.
16. Çözdürülen numuneler -20⁰C'de saklandı.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

4.1 Farklı Kaynaklardan *E. coli* İzolasyonu

Çalışmamızda; 15 adet M'den, 9 adet K' dan, 15 adet GY' den ve 15 adet GB'den olmak üzere toplamda 54 tane su numunesi alınmıştır. Su numuneleri membran filtrasyon yöntemiyle CCA besiyerine ekimi yapılarak inkübe edilmiştir. Çizelge 4.1'de numunelerin alındığı ve tarihleri ile membran filtrasyon yöntemi sonucunda oluşan toplam *E. coli* sayıları belirtilmiştir.

Çizelge 4. 1 Alınan numunelerin membran filtrasyon yöntemi ile tespit edilen toplam *E. coli* (kob/100 ml) sayıları

Numunenin Alındığı Yer	Numunenin Alındığı Tarih	Toplam <i>E. coli</i> sayısı
Karasu Çayı (K)	17.09.19	10
	15.10.19	70
	28.08.19	4
	20.09.19	122
	10.10.19	596
	09.10.19	104
	13.10.19	473
	12.07.19	229
	11.10.19	354
Murat Nehri (M)	20.09.19	2
	12.07.19	2
	28.09.19	1
	25.09.19	1
Gölet Balık (GB)	17.09.19	2
	13.10.19	1
Gölet Yurt (GY)	17.09.19	3
	13.10.19	1
	03.10.19	2
	20.09.19	6
	08.10.19	1

Farklı kaynaklardan alınan toplam 54 su numunesinin sadece 20 su numunesinin CCA üzerinde koyu mavi ila mor koloniler görülmüş diğer numunelerin CCA üzerinde pembe veya beyaz kolonilerin olduğu gözlenmiştir ve daha sonraki çalışmalara bu numuneler dahil edilmemiştir.

Su numunesi alınan dört farklı kaynaktan toplam *E. coli* sayısı en fazla Karasu Çayında tespit edilmiştir. Karasu Çayının hem hayvansal atığın hemde kanalizasyon atığın karışması ile kirliliğin olabileceği düşünülmektedir. Johnson ve ark. (2003), tarafından yapılan çalışmada, su örnekleri ile hayvansal dışkılarından oluşturulan gübreler arasında ilişki olduğu görülmüştür (Johnson ve ark., 2003).

Aydın (2021) çalışmasında Van bölgesine ait farklı kaynaklardan almış olduğu toplam 55 su numunesinin % 34.54 oranında *E. coli* olduğu tespit edilmiştir (Aydın, 2021). Kankur (2016) çalışmasında 1 Nisan-1 Ağustos 2015 tarihlerinde İstanbul Anadolu yakasına ait İstanbul 3 Nolu Halk Sağlığına gelen toplam 1875 su numunesinin %1.07'sinde *E. coli* olduğu tespit edilmiştir (Kankur, 2017). Ekici ve ark. (2010) tarafından Van ve yöresindeki içme ve doğal kaynak sularının koliform grubu ve *E. coli* yönünden incelemelerinde 24 doğal kaynak ve 176 şebeke suyu olmak üzere toplam 200 su numunesi toplanmış ve toplanan su numunelerinden %18.5'i *E. coli* içerdiği belirlenmiştir (Ekici ve ark., 2010). Mustafa (2020), Sakarya ili sınırları içerisinde yer alan Poyrazlar Gölü'nden Kasım 20 farklı noktadan toplam 120 su numuneleri alınarak gölün mikrobiyal kalitesi araştırılmak istenilmiş ve su numunelerin %4.5 'ü *E. coli* olduğu tespit edilmiştir (Mustafa, 2020). Kozan (2020), Çorum ilinde bulunan Obruk Baraj Gölü'nde yapılan çalışmada 11 farklı lokasyondan su numuneleri alınmış ve numunelerin %36'sının *E. coli* olduğu tespit edilmiştir (Kozan, 2020). Bizim çalışmamızda ise Muş ilinden almış olduğumuz dört farklı su kaynaklarından toplam 54 su numunelerinin %37,04 oranında *E. coli* olduğu tespit edilmiştir. Türkiye 'nin birçok yöresinde yapılan çalışmalarda birkaç çalışma dışında bizim çalışmamız benzerlik göstermektedir. Ülkemiz sularından *E. coli*'nin izolasyonu içme suları ve tarımsal sulamada kullanılan suların istenen standartlarda olmadığını göstermiştir. Bunun sebebi yeterli özellikle kırsal kesimde atık sularının yeterli bir şekilde arıtma olmadan çevresel sulara karışması olarak düşünülmektedir.

4.2 Saf Koloni Elde Etme

CCA besiyerinde üreme gösteren koloniler *E. coli* için seçici besiyeri olan Eosine Methylene Blue (EMB) Agar besiyerine A, B ve C şeklinde paralel ekim yapılmıştır, sonuçları ve verilen suş numaraları Çizelge 4.2' de verilmiştir.

Çizelge 4. 2 EMB besiyerinde üreme gösteren numuneler ve verilen suş numaraları

Suş No	Numuneler	EMB Üreme	Suş No	Numuneler	EMB Üreme
1	17.09.19-KA	+	26	13.10.19-KA	+
2	15.10.19-KB	+	27	10.10.19-KB	+
3	17.09.19-KC	+	28	20.09.19-MA **	+
4	28.09.19-KB	+	29	03.10.19-GYA **	+
5	13.10.19-KC	+	30	03.10.19-GYB	+
6	17.09.19-KB	+	31	25.09.19-M*	+
7	11.10.19-KA	+	32	13.10.19-GY*	+
8	20.09.19-KA	+	33	13.10.19-GB*	+
9	11.10.19-KB	+	34	17.09.19-GBA **	+
10	13.10.19-KB	+	35	28.09.19-M*	+
11	28.09.19-KA	+	36	17.09.19-GYB	+
12	12.07.19-KB	+	37	08.10.19-GY*	+
13	09.10.19-KA	+	38	20.09.19-GYB	+
14	09.10.19-KC	+	39	25.09.19-GYA	+
15	10.10.19-KC	+	40	17.09.19-GYA	+
16	09.10.19-KB	+	41	20.09.19-GYA	+
17	28.09.19-KC	+	42	17.09.19-GBB **	-
18	11.10.19-KC	+	43	20.09.19-GYC	-
19	12.07.19-KA	+	44	20.09.19-MB **	-
20	20.09.19-KB	+	45	17.09.19-GYC	-
21	20.09.19-KC	+	46	12.07.19-MA **	-
22	15.10.19-KA	+	47	12.07.19-MB **	-
23	10.10.19-KA	+	48	25.09.19-MA	-
24	12.07.19-KC	+	49	03.10.19-GYA **	-
25	15.10.19-KC	+			

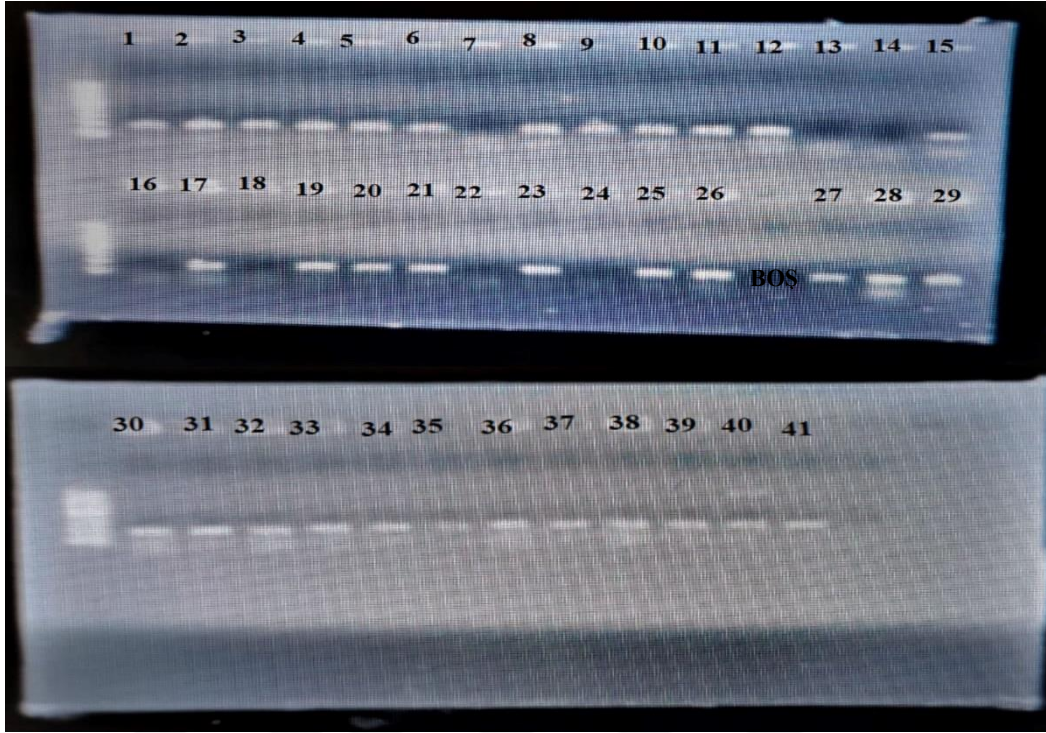
* CCA besiyerinde tek koloni oluştuğu için EMB besiyerine tek koloniden ekim yapılmıştır.

** CCA besiyerinde iki tane koloni oluştuğu için EMB besiyerine iki paralel olacak şekilde ekim yapılmıştır.

EMB besiyerindeki sonuçlara göre ekim yapılan 49 numuneden 41 numunesinde üreme gözlenmiştir. Çizelgede de üreme olan suş numaraları pozitif olarak belirtilmiştir.

4.3 *uidA* Gen Bölgesinin Taranması

uidA gen bölgesine spesifik olarak tasarlanan primer seti ile gerçekleştirilen koloni PZR sonucunda oluşan ürünler %1' lik agaroz jelde yürütülmüştür. *uidA* gen bölgesine ait bant profilinin jel görüntüsü incelenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 *uidA* gen bölgesinin agaroz jeldeki bant oluşumları. Boş: Yükleme yapılmayan kuyu

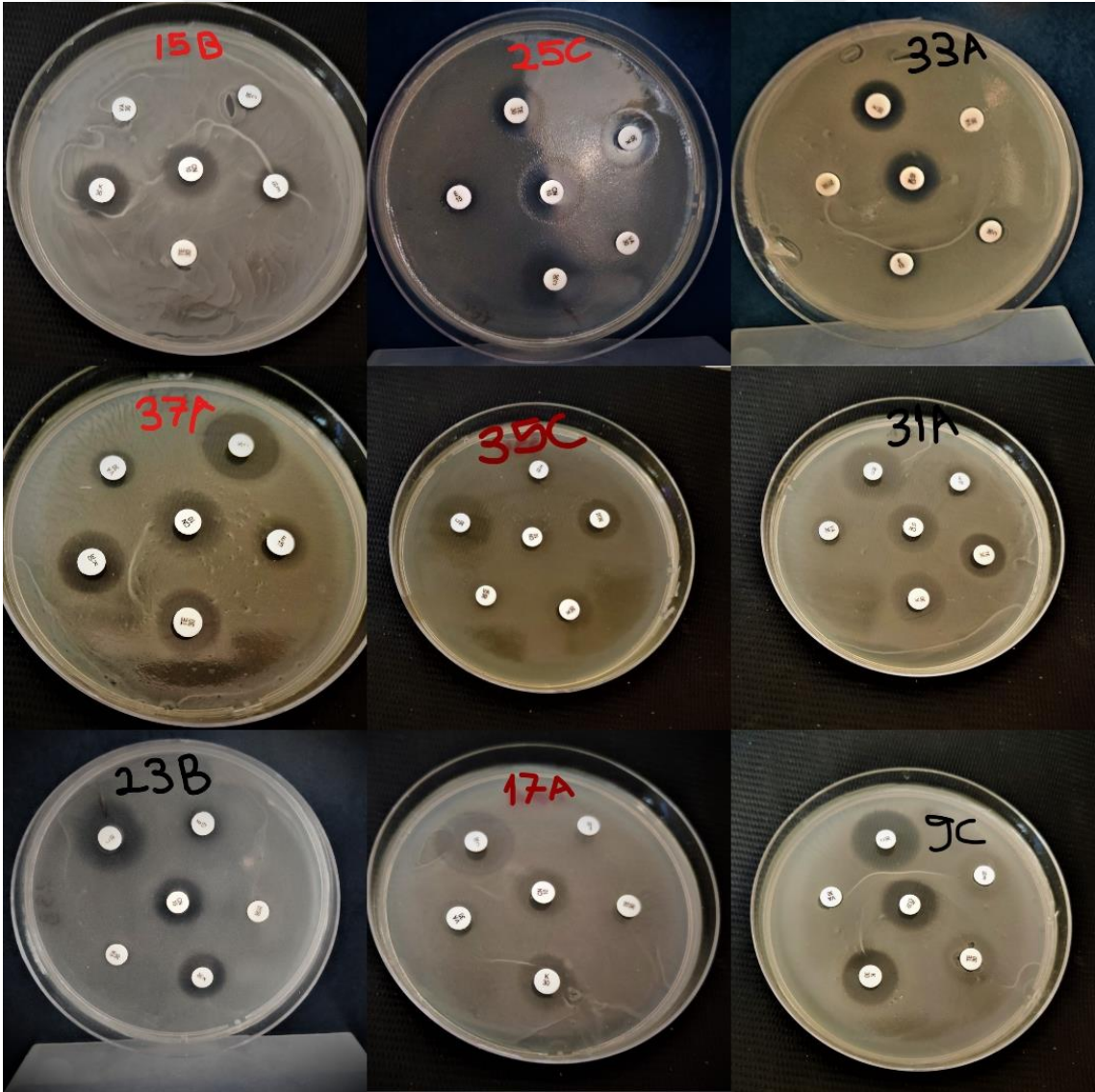
E. coli için seçici besiyeri olan EMB besiyerinde 41 numunenin üremeleri görülmesine rağmen suşların %85'inde *uidA* gen bölgesine ait bant görülmüştür. Sonraki çalışmalarda 34 numune üzerinden devam edilmiştir.

Martins ve ark. (1993) tarafından yapılan çalışmada, su kaynaklarından elde edilen 435 suşların *uidA* gen bölgesine bakılmış ve izolatların %97,7'sinde *E. coli* suşları saptanmıştır (Martins ve ark, 1993). Alsanjary ve ark. (2022) tarafından Eylül 2020 ve Ocak 2021 tarihleri arasında Ninova Valiliği çevresinde bulunan farklı bölgelerden süt çiftliğinin çeşitli alanlarından rastgele yatak, toprak, dışkı, yem, süt, su, işçi elleri ve sineklerin her birinden 50 toplamda 400 numune toplanmıştır. İzole edilen suşların *uidA* gen bölgesine bakılmış ve *E. coli*'nin en yüksek oranı %76 (38/50) ile sineklerden, en düşük oranı ise %12 (6/50) ile çalışanların ellerinden elde edildiği tespit edilmiştir. Yatak, dışkı, süt, toprak, yem ve sudan izole edilen *E. coli* yüzdesi sırasıyla %46 (23/50), %38 (19/50), %34 (17/50), %28 (14/50), %28 (14/50) ve %18 (9/50) olarak bulunmuştur (Alsanjary ve Sheet, 2022 #192). Green ve ark. (1991) çalışmalarında sulardaki fekal kirliliği tespit için *uidA* gen bölgesi taraması yaparak izole ettikleri suşların %30'u *E. coli* çıkmıştır (Green ve ark., 1991).

4.4 Elde Edilen Suşların Antibiyotik Dirençlilik Testi

İzole edilen *E. coli* suşlarının 10 farklı antibiyotiğe duyarlılığı disk difüzyonu testi ile belirlenmiştir. Suşların her biri 3 paralel olacak şekilde çalışmaya alınıp sonuçların zon çapları mm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.2). Sonuçlar, EUCAST (2019)'a belirtilen değerlere göre değerlendirilip Çizelge 4.3 oluşturulmuştur. Antibiyotik dirençlilik testi sonucunda antibiyotiklerin oluşturdukları zon çapları EK-1'de yer almaktadır.

İzole edilen 34 *E. coli* suşları eritromisin ve rifampisine %100, vankomisin %97.05, tetrasiklin ve gentamisine %85.29, sülfametaksozol %70.58, kanamisin %47.05, ampisilin %35.29, siprofloksasin %23.52 ve kloramfenikol %5.8 oranlarında dirençli oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 4. 2 Suşların disk difüzyon testi sonucuna göre oluşturdukları zonlar

Çizelge 4. 3 İzole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik dirençlilik değerlendirilme sonuçları

Suş No	Antibiyotikler									
	C (30µg)	E (15 µg)	TE (30 µg)	CN (10 µg)	VA (30 µg)	K (30 µg)	AM (10 µg)	CIP (5 µg)	RA (5 µg)	SMZ (300 µg)
1	S	R	I	R	R	I	R	R	R	S
2	S	R	I	S	R	I	S	S	R	I
3	S	R	I	R	R	I	R	I	R	R
4	S	R	R	S	R	I	R	I	R	R
5	S	R	I	S	R	I	S	S	R	R
6	S	R	R	S	R	I	S	S	R	I
8	S	R	I	R	R	I	S	S	R	I
9	S	R	R	R	R	I	R	R	R	R
10	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
11	S	R	R	R	R	I	R	I	R	R
12	S	R	R	R	R	I	S	S	R	R
15	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
17	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
19	S	R	R	R	R	I	S	R	R	R
20	S	R	R	R	R	R	S	I	R	R
21	S	R	R	R	R	R	S	I	R	R
23	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
25	S	R	R	R	R	I	S	S	R	R
26	S	R	R	R	R	I	R	R	R	R
27	S	R	R	R	R	I	R	S	R	R
28	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
29	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
30	S	R	R	S	R	I	S	S	R	I
31	S	R	R	R	R	I	S	I	R	S
32	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
33	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
34	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
35	S	R	R	R	R	I	S	S	R	R

36	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
37	S	R	R	R	I	I	S	S	R	S
38	S	R	R	R	R	R	S	I	R	S
39	S	R	R	R	R	R	S	S	R	I
40	S	R	R	R	R	R	S	S	R	I
41	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
R %	5,8	100	85,29	85,29	97,05	47,05	35,29	23,52	100	70,58
I %	0	0	14,7	0	2,94	52,94	0	20,58	0	17,64
S %	94,11	0	0	14,7	0	52,94	64,70	55,88	0	11,76

C: Kloramfenikol, E: Eritromisin, TE: Tetrasiklin, CN: Gentamisin, VA: Vankomisin, AM, Ampisilin, K: Kanamisin, CIP: Siprofloksasin, RA: Rifampisin, SMZ: Sülfametaksozol

Akkan ve ark.(2019), Giresun Batlama Deresinden izole edilen *E. coli*'lerin antibiyotik direnç düzeyleri yaz mevsimi aylarında; ampisilin %66.7, tetrasiklin %42.4, kloramfenikol %39.4, eritromisin %33.3, sonbahar mevsimi aylarında; ampisilin %56.7, tetrasiklin ve eritromisin %33.3, kloramfenikol %30, kış mevsimi aylarında; ampisilin ve tetrasiklin: %46.2, kloramfenikol %38.5, eritromisin %26.9 ve ilkbahar mevsimi aylarında; tetrasiklin %81.5, eritromisin %70.4, ampisilin %66.7, kloramfenikol %44.4 olarak tespit edilmiştir (Akkan ve Topkaraoğlu, 2019). Yapmış oldukları çalışmada farklı mevsimlerde alınan su numunelerinden izole edilen *E. coli*'lerin antibiyotik dirençlilikleri arasında çok bir değişikliğin olmadığı görülmektedir. Çalışmamızda sonbahar mevsiminde su numuneleri alındı ve bu çalışmadaki sonbahar mevsimindeki sonuçlar karşılaştırıldığında en yüksek dirençlilik oranı ampisilin iken bizim çalışmamızda ise eritromisin çıkmıştır. Kloramfenikol bizim çalışmamızda en düşük dirençlilik oranına sahip iken, bu çalışmada ise dirençlilik oranın daha yüksek olduğu görülmektedir.

Doğan (2008), İstanbul Küçükçekmece Lagününden izole edilen toplam 71 *E. coli* suşlarının en yüksek dirençlilik oranı % 62.5 ile ampisilin olduğu ve kloramfenikol ise %30,99 olarak tespit edilmiştir (Doğan, 2008). Bizim çalışmamızla yapılan bu iki antibiyotikle karşılaştırıldığında benzerlik görülmektedir.

Can (2011), Ankara ilindeki çeşitli su kaynaklarından izole ettiği *E. coli* suşları ile yapmış olduğu çalışmada ampisilin'e % 100, sülfametaksozol'e % 42.9, tetrasiklin'e % 28.6, ve kloramfenikol'e % 2.9 oranlarında dirençli olarak tespit edilmiştir.

Gentamisin, kanamisin ve siprofloksasine dirençli izolat bulunmamıştır (Can, 2011). Yapılan çalışmamızla karşılaştırıldığında kloramfenikol dirençlilik oranı benzerlik göstermektedir. Ampisilin en yüksek dirençlilik oranına sahip olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda ise en yüksek dirençlilik eritromisin ve rifamisin'de olduğu görülmektedir. Eritromisin ve rifamisinin dirençliliğinin plazmit kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Sivri ve ark.(2016), İstanbul güneybatı sahilinden almış oldukları su numunelerinden izole edilen suşları ile yapmış olduğu çalışmada ampisilin'e % 89,6, tetrasiklin'e % 49,2, kloramfenikol'e % 10,5 oranlarında direnç tespit edilmişti (Sivri ve Akbulut, 2016). Bu çalışma ile bizim çalışmamız karşılaştırıldığında antibiyotik dirençlilik oranları benzerlik göstermemektedir.

Kayış (2022), Atatürk Baraj gölünden alınan su numunelerinden izole ettiği *E.coli* suşları ile yapmış olduğu çalışmada eritromisin'e % 95, tetrasiklin dirençliliği % 14.28, kloramfenikol dirençliliği % 8.50 ve izole edilen bakterilerin tamamının ise gentamisin karşı hassas oldukları bulunmuştur (Kayış, 2022). Çalışmamız ile karşılaştırıldığında eritromisin ve kloramfenikol dirençlilik oranları arasında benzerlik olduğu görülmektedir. Çalışmamızda tetrasiklin dirençlilik oranı yüksek olduğu ama Kayış (2022)'nin yapmış olduğu çalışmada düşük bir orana sahip olduğu görülmektedir.

Çalışmamıza ve benzer çalışmalara bakılarak Türkiye'nin farklı su kaynakları ile yapılan çalışmalarda en fazla dirençlilik oranına ampisilin ve en düşük dirençlilik oranına ise kloramfenikol'e ait olduğu görülmektedir. Ampisilin ülkemizde tıp ve hayvancılıkta en çok kullanılan antibiyotik olması bu durumda büyük etkisi olabileceği düşünülmektedir. Kloramfenikol'ün düşük çıkması ise hayvancılıkta gıda üreten hayvanlarda kullanımı 1994 yılında Avrupa Birliği tarafından yasaklanmış ve bu durumda direnç gelişiminin önüne geçmesine neden olmuştur (Schwarz ve ark., 2004). β -laktamlar, tetrasiklinler, aminoglikozidler, makrolidler ve sülfonamidler gibi antibiyotikler, sadece bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için değil aynı zamanda gıda için kullanılan hayvanların büyüme hızını arttırmada gıda katkı maddeleri olarak da kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda hayvansal kaynakların yoğun olduğu bölgeler olduğu için dirençlilik oranlarının ile antibiyotik kullanımının benzerlik gösterdiği görülmektedir.

4.5 Suşların RAPD PZR Profilleri

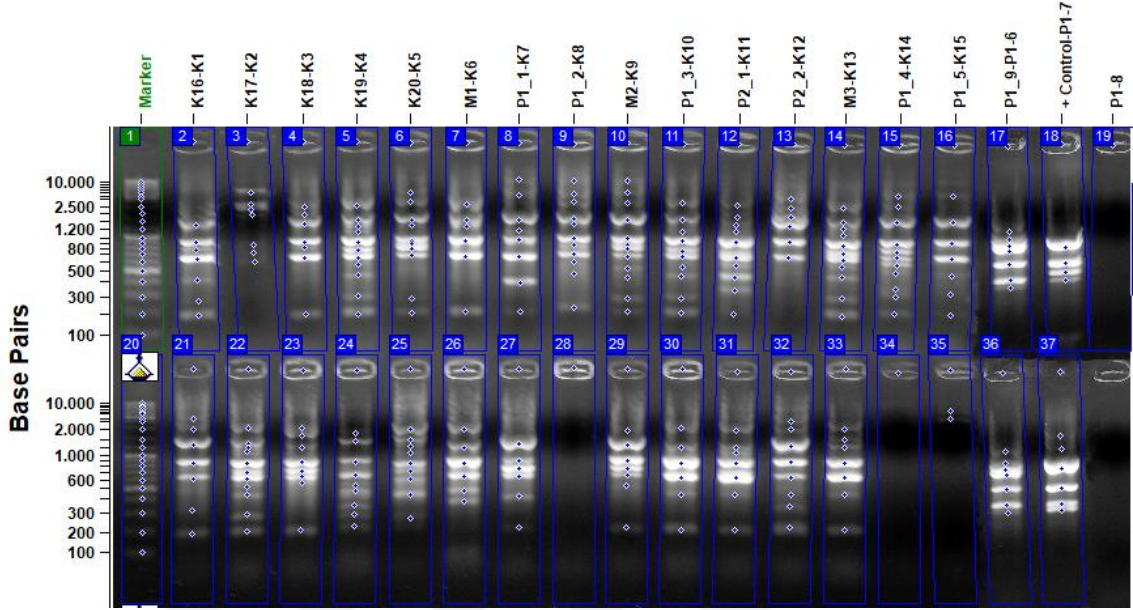
İzole edilen *E.coli* suşlarının OPA-8, OPA-29, OPA-30 ve OPA-1247 primerleri kullanılarak gerçekleştirilen RAPD-PZR sonucunda oluşan ürünler %1' lik agaroz jelde yürütülmüştür.

Çizelge 4. 4 RAPD- PZR için yeni numune kodları

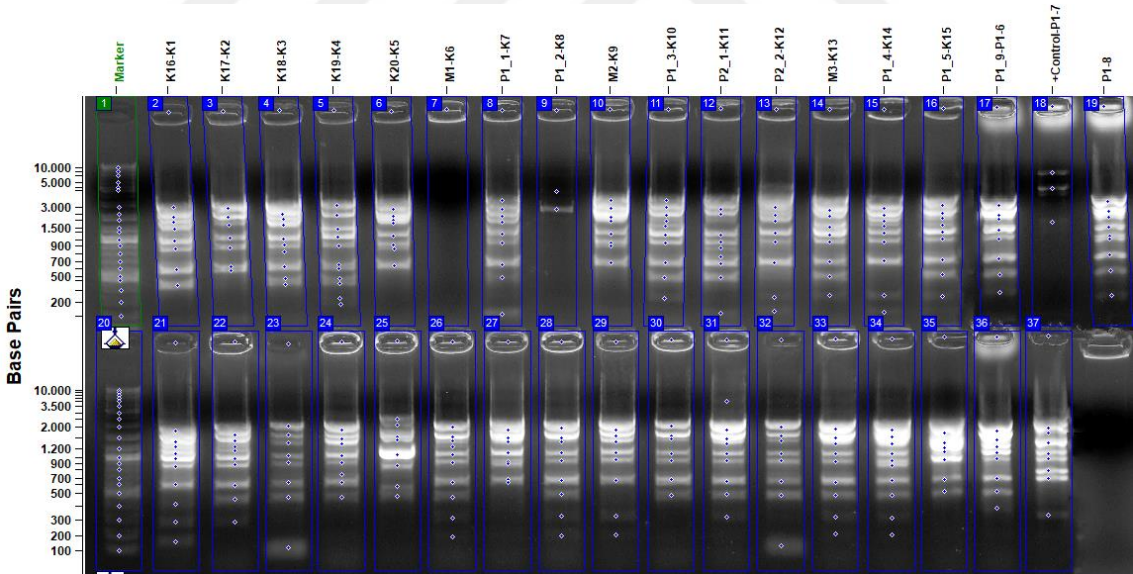
Suş No	Numune	Yeni Numune Kodları
1	17.09.19-KA	K1
2	15.10.19-KB	K2
3	17.09.19-KC	K3
4	28.09.19-KB	K4
5	13.10.19-KC	K5
6	17.09.19-KB	K6
8	20.09.19-KA	K7
9	11.10.19-KB	K8
10	13.10.19-KB	K9
11	28.09.19-KA	K10
12	12.07.19-KB	K11
15	10.10.19-KC	K12
17	28.09.19-KC	K13
19	12.07.19-KA	K14
20	20.09.19-KB	K15
21	20.09.19-KC	K16
23	10.10.19-KA	K17
25	15.10.19-KC	K18
26	13.10.19-KA	K19
27	10.10.19-KB	K20
28	20.09.19-MA	M1
29	03.10.19-GYA	Pond1-1
30	03.10.19-GYB	Pond1-2
31	25.09.19-M	M2
32	13.10.19-GY	Pond1-3
33	13.10.19-GB	Pond2-1
34	17.09.19-GBA	Pond2-2
35	28.09.19-M	M3
36	17.09.19-GYB	Pond1-4
37	08.10.19-GY	Pond1-4
38	20.09.19-GYB	Pond1-5
39	25.09.19-GYA	Pond1-6
40	17.09.19-GYA	Pond1-7
41	20.09.19-GYA	Pond1-8

Jel görüntüsü sonucu elde edilen bantların filogenetik analizi TotalLab TL 120 (Nonlinear Dynamics LTD) programında yapılmıştır. OPA-8 primeri ile gerçekleştirilen RAPD-PZR sonuçlarına ait jel görüntüsü Şekil 4.3'de verilmiştir. OPA-29 primeri ile gerçekleştirilen RAPD-PZR sonuçlarına ait jel görüntüsü Şekil 4.4'de verilmiştir. OPA-30 primeri ile gerçekleştirilen RAPD-PZR sonuçlarına ait jel görüntüsü Şekil 4.5' de verilmiştir. OPA-1247 primeri ile gerçekleştirilen RAPD-PZR sonuçlarına ait jel

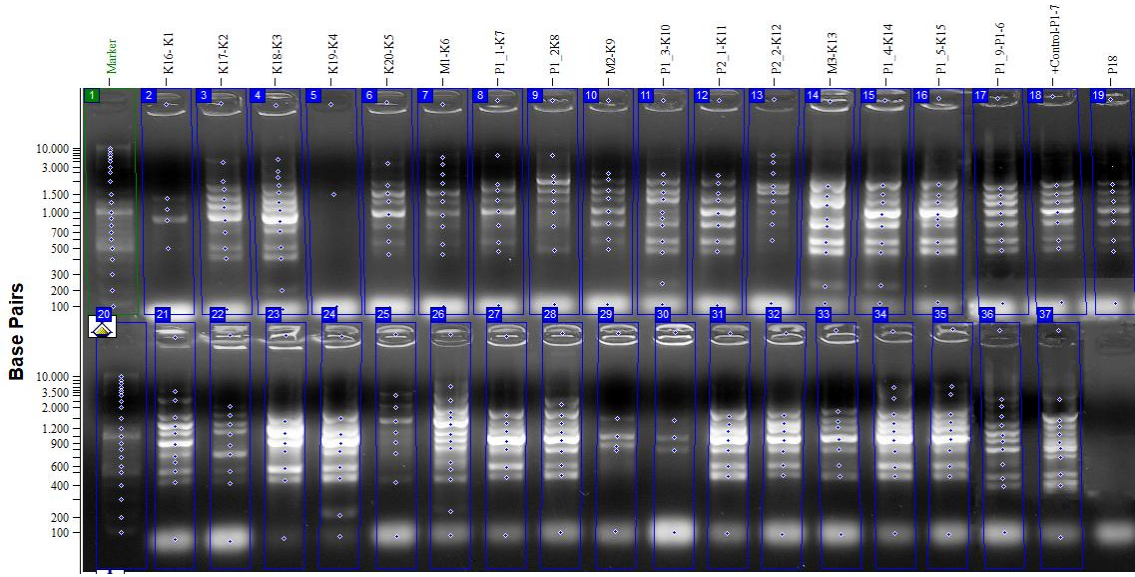
görüntüsü Şekil 4.6'de verilmiştir. RAPD-PZR işlemi için kullanılan *E. coli* numunelerinin numaralandırılması Çizelge 4.4'de gösterilmiştir.



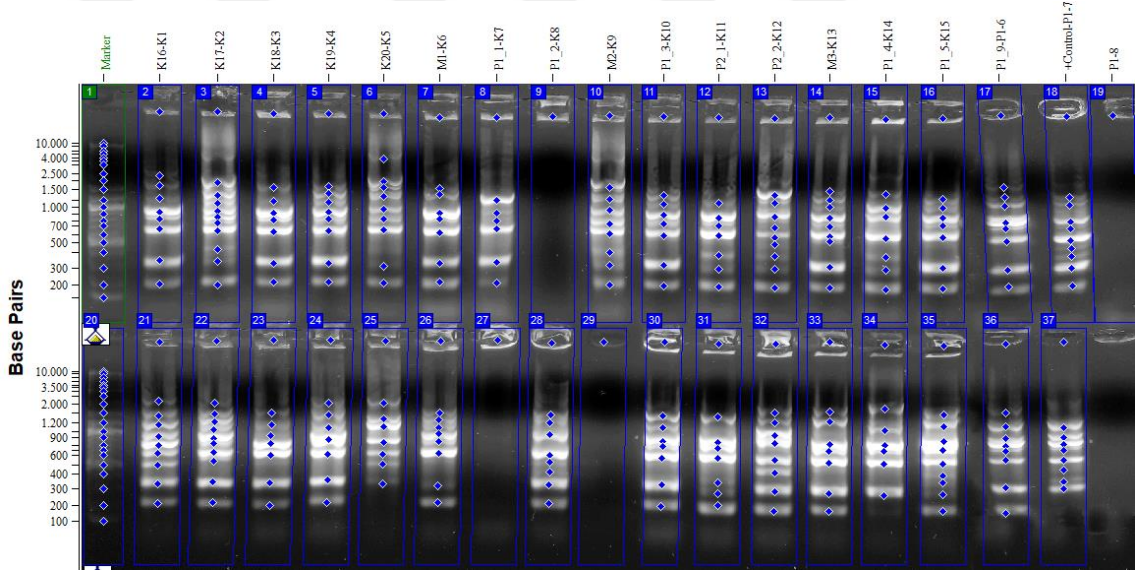
Şekil 4. 3 OPA-8 primeri ile gerçekleştirilen RAPD- PZR sonuçlarının %1'lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4. 4 OPA- 29 primeri ile gerçekleştirilen RAPD-PZR sonuçlarının %1'lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4. 5 OPA- 30 primeri ile gerçekleştirilen RADP-PZR sonuçlarının %1'lik görüntüleri



Şekil 4. 6 OPA- 1247 primeri ile gerçekleştirilen RADP-PZR sonuçlarının %1'lik görüntüleri

Farklı su kaynaklarından izole edilen 34 *E. coli* izolatu ve kontrol olarak *E. coli* (ATCC 25922) kullanılmıştır. Çizelge 4.5'da, farklı primerlerin kontrol suşu ile karşılaştırılarak oluşturdukları toplam polimorfik bant sayıları gösterilmiştir. OPA-8 primeri ile yapılan RAPD uygulamasında en fazla polimorfik bant sayısı olduğu görülmektedir. En az polimorfik bant sayı OPA-29 primeri ile olduğu görülmektedir.

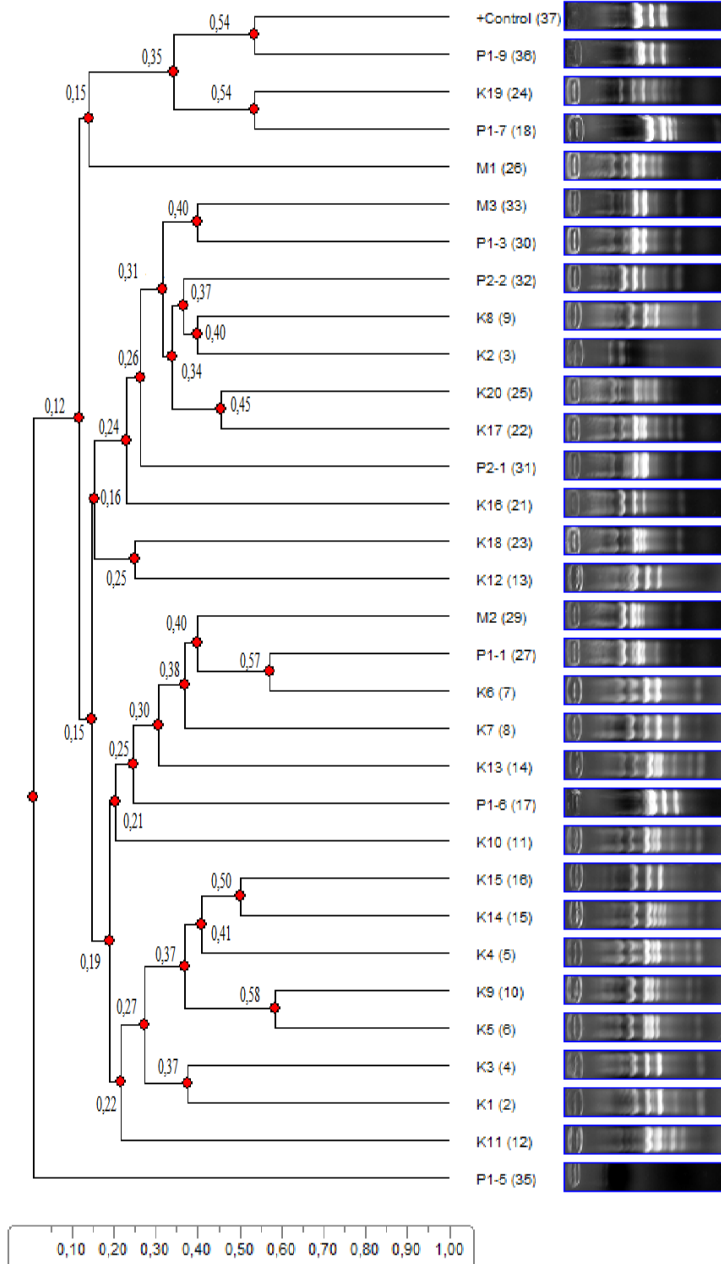
Birden fazla ve farklı RAPD primerinin kullanılması RAPD işleminin ayırt etme gücünü artırabilmektedir. Chansiripornchai ve ark. (2001) çalışmalarında altı farklı primer kullanmışlardır. Aynı araştırmacılar bu primerlerden rastgele 4 primerin farklı kaynaklardan gelen *E.coli* suşu üzerinde en yüksek ayırt edici gücü verdiğini

bulmuşlardır (Chansiripornchai ve ark., 2001). Gomes ve ark. (2005), çalışmalarında OPAC 04, OPAC 07, OPAC 09, OPAC 11 ve OPAC 12 primerlerinin her bir serotip için polimorfik bant desenleri oluşturduğunu ve tüm serotipleri birbirinden ayırt edebildiğini göstermişlerdir (Gomes ve ark., 2005). Bizim çalışmamızda da 27 farklı primer denenmiş yalnız rastgele 4 farklı primerde polimorfik bant desenleri oluşturduğu ve tüm suşların birbirinden ayırt edilebildiği sonuç elde edilmiştir.

Çizelge 4. 5 Primerlerin RAPD sonucu oluşturdukları toplam polimorfik bant sayıları

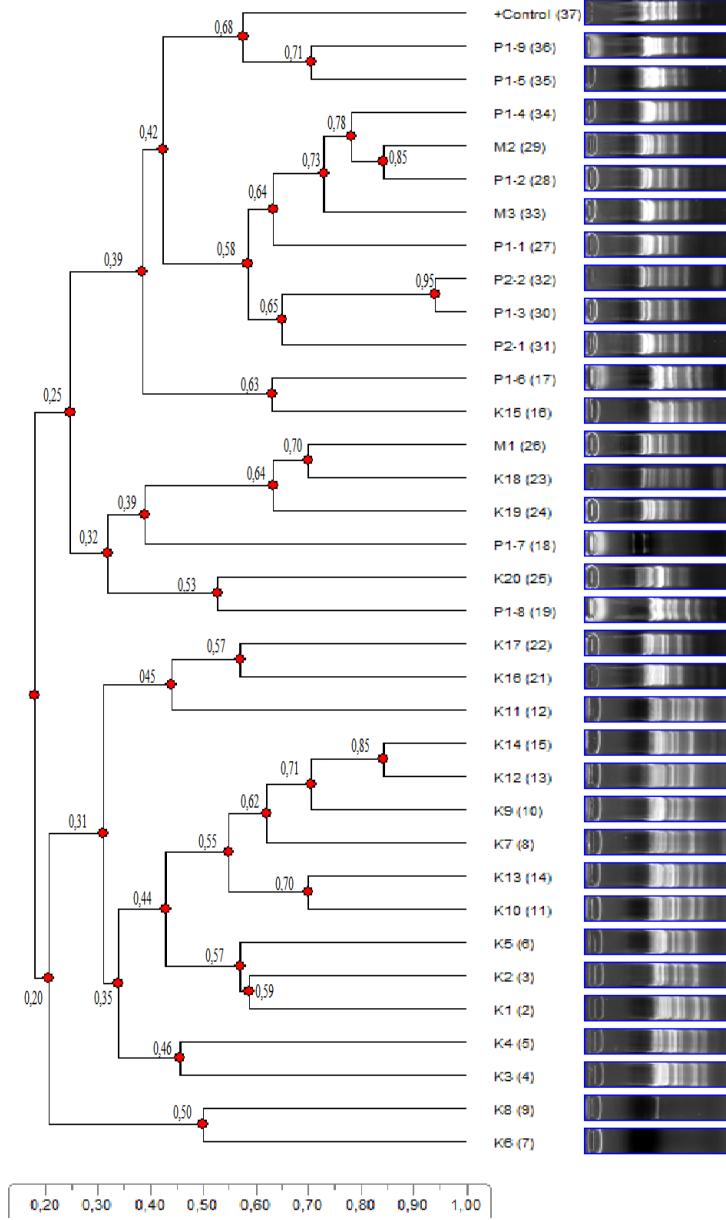
Primer	Sekansı	Polimorfik Bant Sayısı
OPA-8	CCTGGGTGGA	138
OPA-29	AGGGCGTAAG	96
OPA-30	AAAACCGGGC	104
OPA-1247	AAGAGCCCGT	100

Farklı kaynaklardan izole edilen *E. coli* suşları arasındaki genetik akrabalık, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'daki dendrogramlarla gösterilmiştir. Primerler arasındaki benzerlik katsayıları birbirinden farklılık göstermektedir. OPA-30 primeri en yakın benzerlik katsayısını verirken en uzak benzerlik katsayısı OPA-8 primerinde görülmektedir.



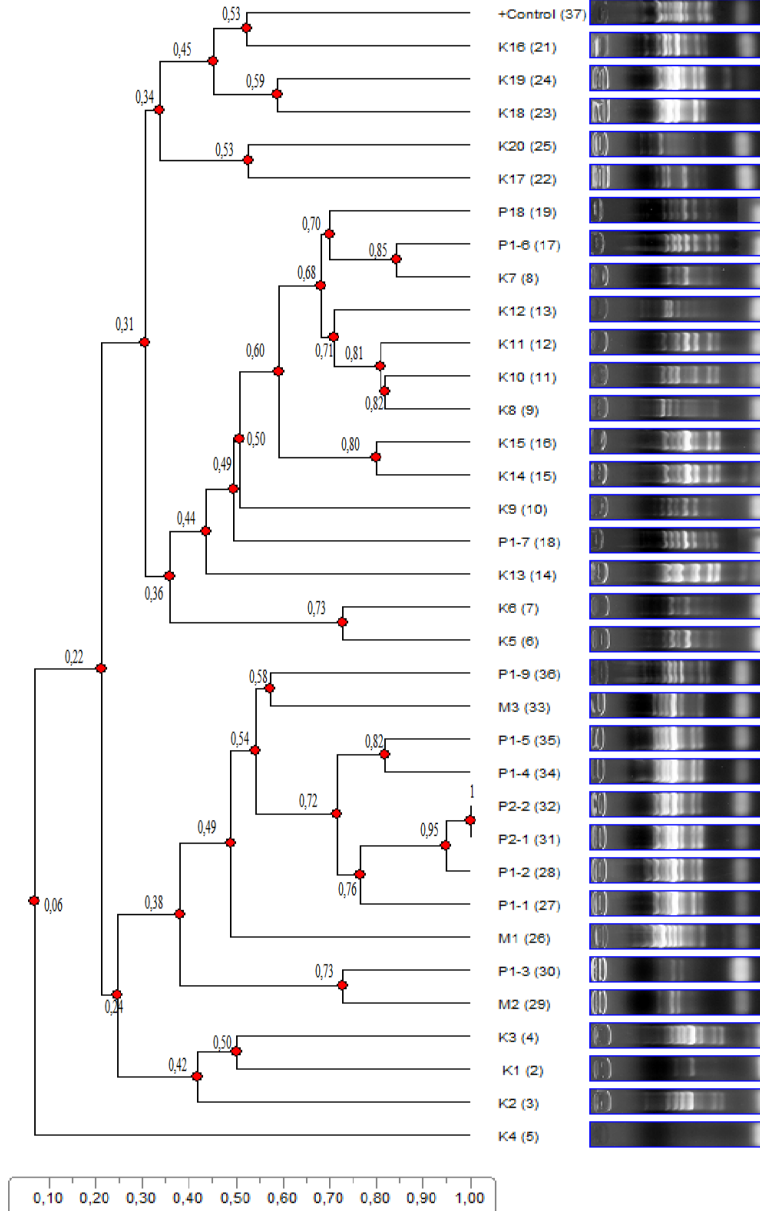
Şekil 4. 7 OPA-8 primeri ile oluşturulan dendrogram. P1-5 suşu OPA-8 primerinde bant oluşturmadığı bant profilinden görülmektedir.

Şekil 4.7' de, *E.coli* suşlarının OPA-8 primeri ile 2 ana sınıf, 29 düğüm ve 21 alt sınıfa ayrıldıkları görülmektedir. Aynı kaynaktan izole edilen *E.coli* suşlarının bir arada yer aldığı görülmektedir. K5 ile K9 suşları arasındaki benzerlik katsayısı 0,58 olduğu görülmektedir. Benzerlik katsayısı 0,57 olan P1-1 ile K6 suşları farklı su kaynaklarından izole edilmişler ama yakın akraba olabileceklerini göstermektedir.



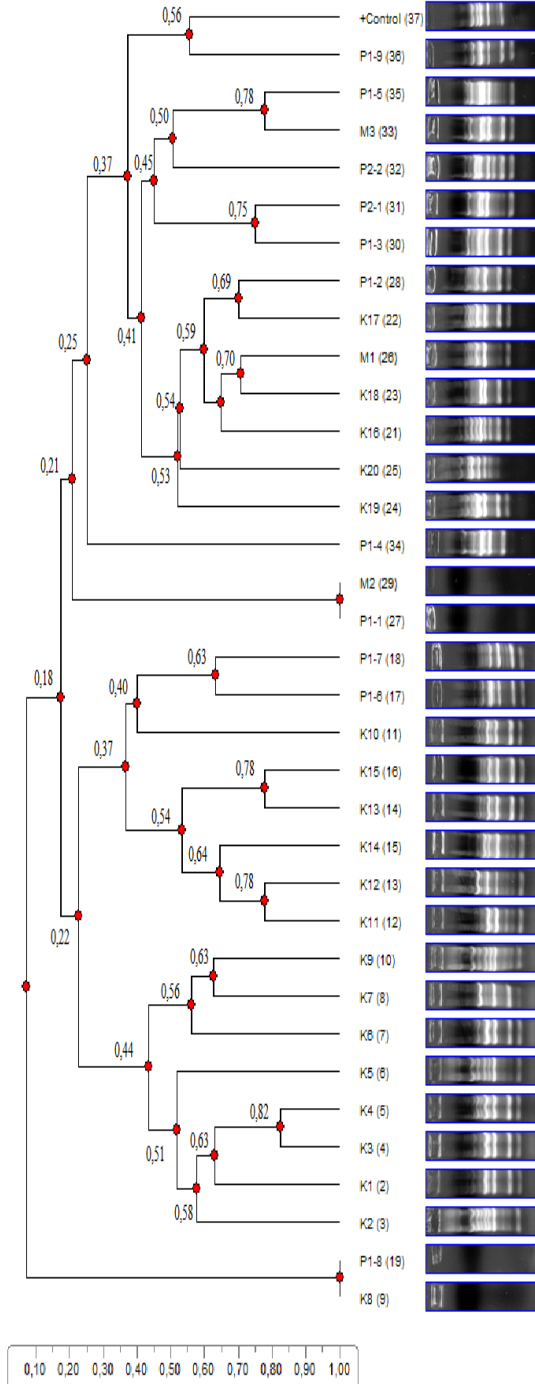
Şekil 4. 8 OPA-29 primeri ile oluşturulan dendrogram

Şekil 4.8’ de, *E. coli* suşlarının OPA-29 primerine göre 2 ana sınıf, 33 düğüm ve 23 alt sınıfa ayrıldıkları görülmektedir. P2-2 ile P1-3 arasındaki benzerlik katsayısı 0,95 ile en yüksek benzerlik katsayısı olduğu görülmektedir. Benzerlik katsayısı 0,85 olan 2 tane alt sınıf olan K12 ile K14 suşları ve M2 ile P1-2 suşları gelmektedir. *E.coli* suşlarının dendrogramına bakıldığında aynı su kaynaklarından izole edilen suşların bir arada yer aldığını OPA-29 primerinde de görülmektedir.



Şekil 4. 9 OPA-30 primeri ile oluşturulan dendrogram

Şekil 4.9, OPA-30 primeri ile oluşturulan dendrogramda 1 ana sınıf, 2 sınıf, 34 düğüm ve 23 alt sınıfın yer aldığı görülmektedir. Benzerlik katsayısı 1 olan P2-1 ile P2-2 suşlarından oluşmaktadır ve bir arada yer alan P1-2 suşunun benzerlik katsayısı 0,95 olduğu görülmektedir. Farklı su kaynaklarından izole edilen P1-6 ile K7 suşlarının benzerlik katsayısı 0,85 olduğu görülmektedir. Aynı su kaynaklarından izole edilen suşların benzerlik katsayısına göre bir gruplar oluşturmaktadır. Farklı kaynaklardan izole edilmiş ama benzerlik katsayısı yakın olan suşlarda görülmektedir.



Şekil 4. 10 OPA-1247 primeri ile oluşturulan dendrogram

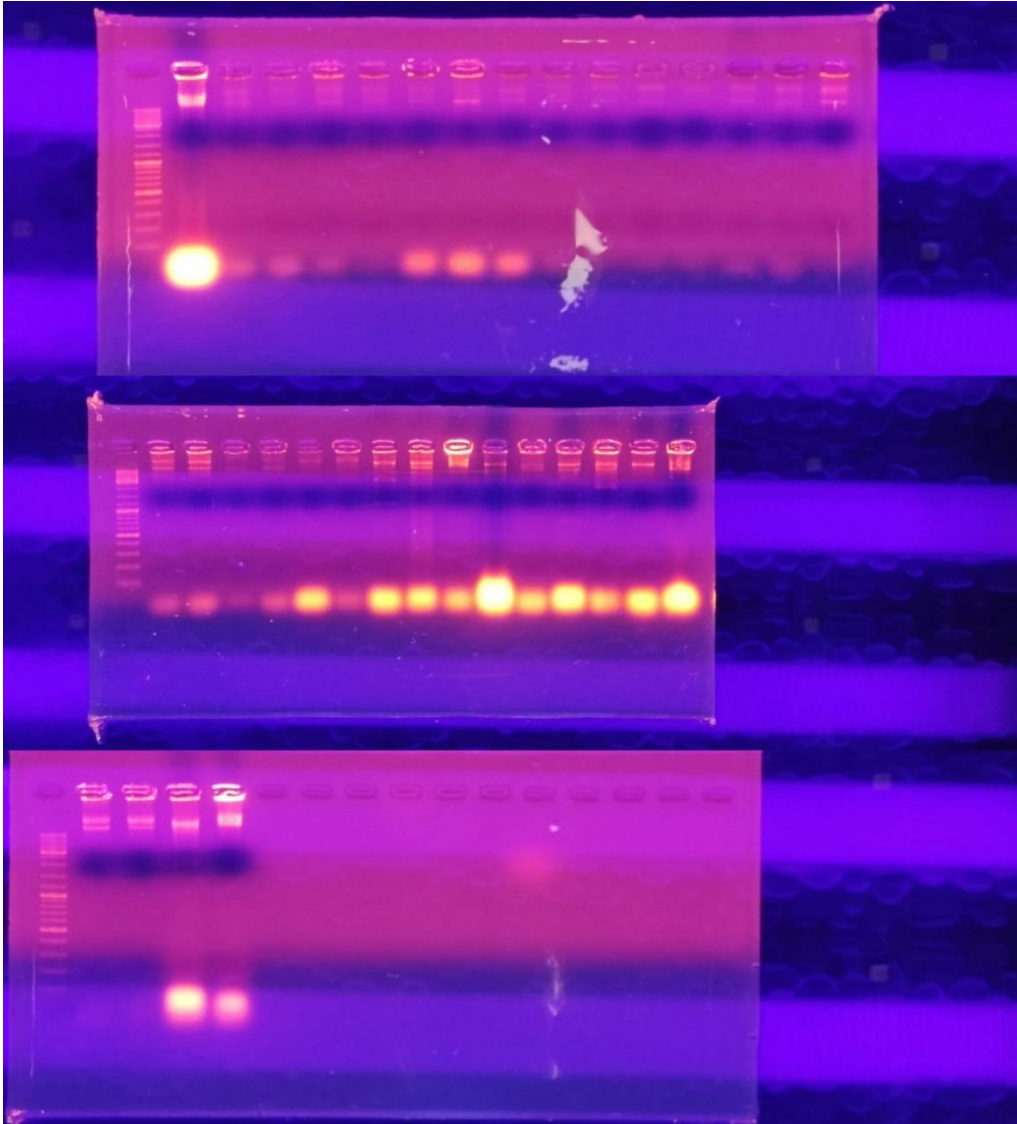
Şekil 4.10 dendrogramında, *E. coli* suşlarının 2 ana sınıf, 30 düğüm ve 21 alt sınıfa ayrıldığı görülmektedir. P1-8 ile K8 ve M2 ile P1-1 suşlarının bant profilleri oluşmamış ve sistem benzerlik katsayını 1 olarak göstermektedir. K3 ile K4 suşlarının benzerlik katsayısı 0,82 olduğu görülmektedir. Aynı su kaynaklarından izole edilen K11 ile K12, K13 ile K15 suşlarının ve farklı su kaynaklarından izole edilmiş P1-5 ile M3 suşlarının benzerlik katsayısının 0,78 olduğu görülmektedir.

Suardana ve ark. (2013) çalışmalarında, on dokuz *E.coli izolatu* 10 farklı RAPD primeri ile uygulanmış ve toplam 126 polimorfik bant bulunduğunu tespit edilmiştir. Dendrogramlarında, 18 düğümlü 19 alt kümeye ayrıldığını gösterilmiştir. Alt küme 1, benzerlik katsayısı 1 olan insan ve sığır suşlarından oluşmuştur. Alt küme 2, alt küme 1 (düğüm 1) ile benzer şekilde benzerlik katsayısı 1 olan sığır izolatından oluşmuştur. Alt küme 3, alt küme 2 (düğüm 2) ile benzer şekilde benzerlik katsayısı 0,99 olan sığır izolatından oluşmuştur (Suardana ve ark., 2013). Allhaby ve ark. (2021), çalışmalarında Ekim-Aralık 2019 tarihleri arasında Bakuba şehrinde 110 musluk suyu örneğinden 10 *E. coli* izolatu izole edilmiştir. İzolatlar RAPD polimorfik bant sayısı temelinde sınıflandırılmış ve dendrogramlarında 2 ana sınıf, 8 düğüm, 4 alt sınıfa ayrılmıştır. Bir izole ise grup dışında yer almıştır (Allhaby ve All-Taai, 2021). Radu ve ark. (2001), 25 bonfile sığır eti ve 3 tavuk eti burger örneğinde toplam 28 *E. coli* O157:H7 suşu tespit edilmiştir. Dendrogramda, 28 izolat RAPD-PCR ile iki ana sınıf ve 22 tek izolata ayrılmıştır (Radu ve ark., 2001). Bando ve ark.(1998) çalışmalarında 33 enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), 12 EIEC olmayan ve 39 *Shigella* suşu ile RAPD tekniği kullanılarak analiz edilmiş ve dendrogramı oluşturulmuştur. Dendrogramın, iki ana sınıfı vardır: Birinci sınıf, *Shigella* suşlarını içermiş ve ikinci sınıf, EIEC ve EIEC olmayan suşları içermiştir. Birinci sınıf 2 kümeden oluşmaktadır. İkinci sınıfta ise 3 küme bulunmuştur. Bu beş küme için 0,25 ile 0,50 arasında bir benzerlik katsayısı bulunmuştur (Bando ve ark., 1998). Hannah ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada et ve insan dışkılarından izole ettikleri *E. coli* suşlarının RAPD dendrogramında >%80 profil benzerliği seviyesinde 12 küme içerdiği, bunlardan üçü hem et hem de insan çalışma izolatlarını içermekte olduğunu ve farklı kaynaklardan izole edilen izolatların pontansiyel genomik benzerlikleri gösterilmiştir (Hannah ve ark., 2009). Gomes ve ark. (2005), çalışmalarında kümes hayvanlarından izole edilen 15 *E. coli* serotipi, 8 farklı rastgele primer kullanılarak RAPD-PCR yapmışlardır. Primerlerin her biriyle yapılan amplifikasyon sonucunda farklı sayıda polimorfik bant içeren bantların oluşmasıyla sonuçlanmıştır. Dendrogramda serotipler iki ana sınıfta toplanmıştır. Ana sınıflardan toplamda 12 alt sınıfa ayrılmıştır. İki ana sınıf arasındaki maksimum bağlantı mesafesi yaklaşık olarak 162 birim bulunmuştur. Farklı alt kümelerde yer alan *E. coli* serotipleri arasında yüzde 75'lik maksimum benzemezlik bulunmuştur. Aynı alt küme içinde yer alan *E. coli* serotipleri arasında en az yüzde 33'lük bir benzerlik gözlenmiştir (Gomes ve ark., 2005). Yapılan RAPD-PCR çalışmaları ile izole edilen *E. coli* suşları arasındaki

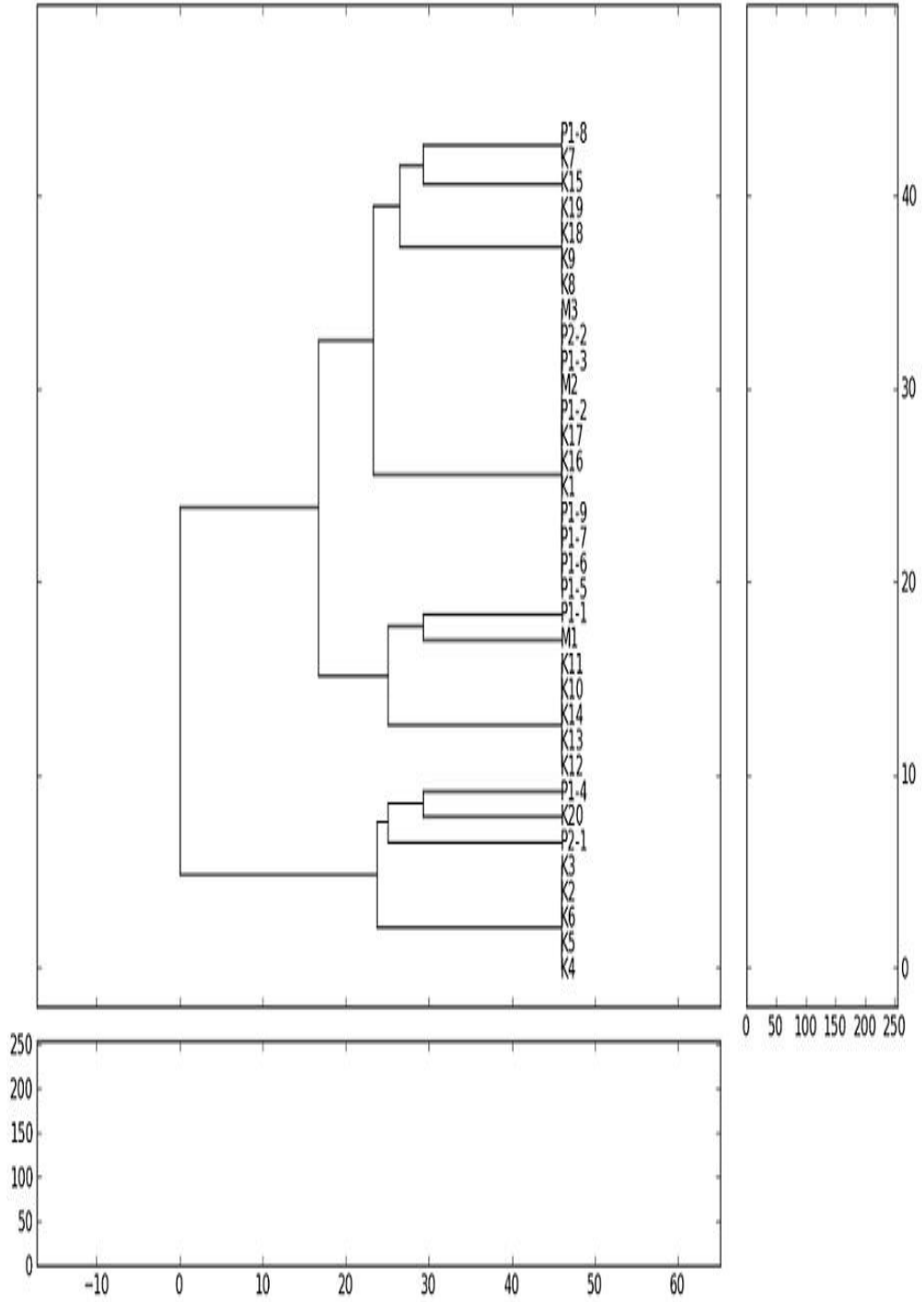
genetik akrabalıkları ve birbirleri arasındaki benzerlik oranları bulunmak istediğini ortaya koymuştur. Bizde kendi çalışmamızda rastgele dört farklı primer ile gerçekleştirdiğimiz RAPD-PCR tekniği ile izole etmiş olduğumuz suşların benzerlikleri gösterilmiştir. Dendrogramlardaki dal uzunlukları suşlar arasındaki genetik mesafe ile orantılı ve bu da soy gruplarının kolayca tanımlanmasını sağlamaktadır.

4.6 Plazmit İzolasyonu

E. coli suşları protokole uygun olarak izole edilmiş sonucunda oluşan ürünler %1' lik agaroz jelde yürütülmüştür. İzolasyon sonucuna ait jel görüntüleri Şekil 4.11' da verilmiştir.



Şekil 4. 11 Plazmid izolasyonun agaroz jel görüntüsü



Şekil 4. 12 Plazmid profillerine göre akrabalık dendrogramları

Plazmid dendrogramına göre; tüm suşların bant profillerinin birbirleri ile yakın ya da uzak akrabalık ilişkileri değerlendirildiğinde ise, iki veya daha fazla suş içeren 2 sınıf ve 8 alt sınıfa ayrıldıkları görülmektedir. P1-8 ve K7; K19, K18, K9 ve K8; M3, P2-2, P1-3, M2, P1-2, K17, K16, K1, P1-9, P1-7, P1-6 ve P1-5; K11, K10, K14, K13 ve

K12; K3, K2, K6, K5 ve K4 alt sınıfların kendi içinde birbirine benzer oldukları görülmektedir.

Plazmid dendrogramları ile antibiyotik duyarlılıkları ile karşılaştırıldığında P1-8 ve K7; K19, K18, K9 ve K8 ve K3, K2, K6, K5 ve K4 alt sınıflarının dirençlilik profilleri birbirleri içinde benzerlik göstermektedir. Dirençlilik özellikleri plazmid kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Öztürk ve ark. (2017), mastitisli sığır sütlerinden izole ettikleri *Enterococcus faecalis* izolatlarının plazmid profillerinin çalışmasında farklı bölgelerden alınan numune izolatlarının aynı plazmid içeriklerine sahip izolatlar olduğu görülmüş ve bu durum da klonal yayılımı desteklemiştir (Öztürk ve Türkyılmaz, 2017). Bizim çalışmamızda P1-8 ve K7; M3, P2-2, P1-3, M2, P1-2, K17, K16, K1, P1-9, P1-7, P1-6 ve P1-5 numunelerinin benzer plazmid içeriğine sahip oldukları ve farklı bölgelerden alınan numuneler olması da klonal yayılım olabileceğini düşündürmektedir.

Ash ve ark. (2002), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki nehirlerden elde edilen *E. coli* izolatları ile antibiyotik direnci üzerine yaptıkları bir çalışmada ampisilin ve diğer ilaçlara (siprofloksasin, tetrasiklin, kloramfenikol, kanamisin ve streptomisin dahil) karşı direncin plazmid aracılı olduğunu göstermişlerdir (Ash ve ark., 2002). Bizim çalışmada ise eritromisin, rifampisine, vankomisin, tetrasiklin ve gentamisine dirençli oldukları görülmekte ve eritromisin ile tetrasiklinin dirençlilikleri plazmid kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Chigor ve ark. (2010) yüzey sularından izole edilen *E. coli* suşlarından plazmid içeren 22 izolatın tamamı (%100) tetrasikline dirençliyken, sadece 10'u (%45,5) siprofloksasine dirençli olduğu bulunmuştur. Toplamda, sekiz izolat iki veya daha fazla plazmid içermekte olduğu görülmüştür (Chigor ve ark., 2010). Bizim çalışmamızda tetrasikline dirençli %85.29, siprofloksasin dirençli ise %23.52 bulundu ve tetraksiklinin dirençliliği plazmid kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Antibiyotiğin keşfinden günümüze kadar geçen süreçte bilinçsiz ve yanlış antibiyotik kullanımı ile antibiyotik atıklarının su ortamına karışması mikroorganizmaların direnç mekanizmaları geliştirmesine olanak sağlamıştır. Su, mikroorganizmaların gelişmesi ve üremeleri için ideal bir ortam oluşturmaktadır. Su ortamı antibiyotik dirençli mikroorganizmaların yayılımını kolaylaştırmaktadır. Antibiyotik dirençli mikroorganizmaların gelecekte ciddi bir sağlık problemi olabileceği düşünülmektedir. Bu problemin zararlarını en aza indirmek için birçok ülke antibiyotik kullanımıyla ilgili bazı önlemler ve politikalar geliştirmiştir. Ülkeler geliştirmiş oldukları önlem ve politikaları hızlı bir şekilde uygulamaya koymaları gerekmektedir. Su ortamında *E. coli* fekal kirlilik göstergesi bir mikroorganizmadır. Sularda *E. coli*'nin bulunması halk sağlığı açısından ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Bu sebeple su ekosistemlerindeki *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi büyük önem arz etmektedir.

5.2 Öneriler

Yapmış olduğumuz çalışma ve diğer yapılan araştırmalarda su ortamlarının su kalitesi açıdan standartlara uymadığı görülmüştür. Su kalitesinin iyi bir düzeye gelmesi için su ortamlarına, çevresel atıkların atılmasının önüne geçilmeli veya daha iyi artıma sistemlerinin kurulması önerilmektedir.

Hayvancılık ve tarım da amacının dışında kullanılan antibiyotiğin önüne geçilmek için eğitilmiş ve bilinçli personeller tarafından belirli bir standartta tabii olacak şekilde kullanımı önerilmektedir.

Su kaynaklarımızdaki, antibiyotik dirençli bakterilerin tespiti için yasal düzenlemelerin oluşturulması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Moein, K.A., Samir, A. 2014. Occurrence of extended spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae among pet dogs and cats: An emerging public health threat outside health care facilities, *American journal of infection control*, 42 (7), 796-798.
- Abe, C.M., Knutton, S., Pedroso, M.Z., Freymüller, E., Gomes, T.A. 2001. An enteroaggregative Escherichia coli strain of serotype O111: H12 damages and invades cultured T84 cells and human colonic mucosa, *FEMS microbiology letters*, 203 (2), 199-205.
- Adams, M., Moss, M. 1999. *Food Microbiology* Royal Society of Chemistry Cambridge, London, pp. 398.
- Alekshun, M.N., Levy, S.B. 1997. Regulation of chromosomally mediated multiple antibiotic resistance: the mar regulon, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41 (10), 2067-2075.
- Allen, H.K., Donato, J., Wang, H.H., Cloud-Hansen, K.A., Davies, J., Handelsman, J. 2010. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments, *Nature Reviews Microbiology*, 8 (4), 251-259.
- Allhaby, N.J., Al-Taai, H.R.R. 2021. Molecular Study of Genetic Diversity in Escherichia coli Isolated from Tap Water in Baquba, *Medico-legal Update*, 21 (1), 1338- 1344.
- Alsanjary, L.H., Sheet, O.H. 2022. Molecular detection of uidA gene in Escherichia coli isolated from the dairy farms in Nineveh governorate, Iraq, *Iraqi J Vet Sci*, 36 (3), 599-603.
- Akkan, T., Topkaraoğlu, T. 2019. Tatlısu kaynaklarımızdaki Escherichia coli izolatlarının antibiyotik direnç düzeylerinin belirlenmesi: Batlama Deresi Örneği, Giresun, *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4 (3), 539-544.
- Amaya, E., Reyes, D., Paniagua, M., Calderón, S., Rashid, M.-U., Colque, P., Kühn, I., Möllby, R., Weintraub, A., Nord, C. 2012. Antibiotic resistance patterns of Escherichia coli isolates from different aquatic environmental sources in Leon, Nicaragua, *Clinical Microbiology and Infection*, 18 (9), E347-E354.
- Armstrong, J.L., Calomiris, J., Seidler, R.J. 1982. Selection of antibiotic-resistant standard plate count bacteria during water treatment, *Applied and Environmental Microbiology*, 44 (2), 308-316.
- Arora, S., Gautam, V., Rana, S., Ray, P. 2014. Novel chromogenic medium for detection of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae, methicillin resistant Staphylococcus aureus and vancomycin resistant Enterococcus, *Journal of Medical Investigations and Practice*, 9 (2), 98-98.
- Ash, R.J., Mauck, B., Morgan, M. 2002. Antibiotic resistance of gram-negative bacteria in rivers, United States, *Emerging Infectious Diseases*, 8 (7), 713-716.
- Aydın, E. 2021. Van yöresinde bulunan çeşitli su kaynaklarının E. coli, koliform bakteri ve Arcobacter spp. açısından değerlendirilmesi, *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14(3), 264-273.

- Baker-Austin, C., Wright, M.S., Stepanauskas, R., McArthur, J. 2006. Co-selection of antibiotic and metal resistance, *Trends in microbiology*, 14 (4), 176-182.
- Bando, S .Y., Valle, G.RF., Martinez, M.B., Trabulsi, L.R., Moreira-Filho, C.A. 1998. Characterization of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* strains by RAPD analysis, *FEMS Microbiology Letters*, 165 (1), 159-165.
- Bergkessel, M., Guthrie, C. 2013. Colony PCR. in: *Methods in enzymology*, Vol. 529, Elsevier, pp. 299-309.
- Blattner, F.R., Plunkett III, G., Bloch, C.A., Perna, N.T., Burland, V., Riley, M., Collado-Vides, J., Glasner, J.D., Rode, C.K., Mayhew, G.F. 1997. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12, *science*, 277 (5331), 1453-1462.
- Bush, K., Jacoby, G.A. 2010. Updated functional classification of β -lactamases, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54 (3), 969-976.
- Cabral, J.H M., Jackson, A.P., Smith, C.V., Shikotra, N., Maxwell, A., Liddington, R.C. 1997. Crystal structure of the breakage–reunion domain of DNA gyrase, *Nature*, 388 (6645), 903-906.
- Can, K. (2011), "Çeşitli Su Örneklerinde Membran Filtrasyon ve Konvansiyonel Yöntemlerle Mikrobiyolojik Kalite Analizi Ve Antibiyotik Dirençliliğinin Saptanması", Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gazi Üniversitesi, Ankara, 223.
- Carlet, J., Collignon, P., Goldmann, D., Goossens, H., Gyssens, I.C., Harbarth, S., Jarlier, V., Levy, S.B., N'Doye, B., Pittet, D. 2011. Society's failure to protect a precious resource: antibiotics, *The Lancet*, 378 (9788), 369-371.
- Chansiripornchai, N., Ramasoota, P., Sasipreeyajan, J., Svenson, S.B. 2001. Differentiation of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strains by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis, *Veterinary Microbiology*, 80 (1), 75-83.
- Chapelle, F.H., 2000, *Ground-water microbiology and geochemistry*, John Wiley & Sons,
- Chee-Sanford, J.C., Aminov, R., Krapac, I.J., Garrigues-Jeanjean, N., Mackie, R.I. 2001. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities, *Applied and environmental microbiology*, 67 (4), 1494-1502.
- Cherubin, C.E., Marr, J.S., Sierra, M.F., Becker, S. 1981. *Listeria* and gram-negative bacillary meningitis in New York City, 1972–1979: frequent causes of meningitis in adults, *The American journal of medicine*, 71 (2), 199-209.
- Chigor , V.N., Umoh, V. J., Smith, S. I., Igbinsosa, E.O., Okoh, A.I. 2017. Multidrug resistance and plasmid patterns of *Escherichia coli* O157 and other *E. coli* isolated from diarrhoeal stools and surface waters from some selected sources in Zaria, Nigeria, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7 (10), 3831-3841.
- Chopra, I., Roberts, M. 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance, *Microbiology and molecular biology reviews*, 65 (2), 232-260.

- Cornaglia, G., Giamarellou, H., Rossolini, G.M. 2011. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *The Lancet infectious diseases*, 11(5), 381-393.
- Czekalski, N., Sigdel, R., Birtel, J., Matthews, B., Bürgmann, H. 2015. Does human activity impact the natural antibiotic resistance background? Abundance of antibiotic resistance genes in 21 Swiss lakes, *Environment international*, 81, 45-55.
- Douthwaite, S., Champney, W.S. 2001. Structures of ketolides and macrolides determine their mode of interaction with the ribosomal target site, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 (2), 1-8.
- D'Costa, V.M., King, C.E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W.W., Schwarz, C., Froese, D., Zazula, G., Calmels, F., Debruyne, R. 2011. Antibiotic resistance is ancient, *Nature*, 477 (7365), 457-461.
- De Kraker, M.E., Davey, P.G., Grundmann, H., Group, B.S. 2011. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe, *PLoS Med*, 8 (10), e1001104.
- Destiani, R. (2019), ""Antibiotic resistant bacteria and genes in drinking water"", Doctoral, *Civil and Environmental Engineering*, Imperial College, London, 217.
- Doğan, D. (2008), " Küçükçekmece Lagünü'nden (İstanbul) İzole Edilen Enterik Bakterilerin Antibiyotik Direnç Profili", Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 102.
- Diaz, K.S., Rich, V.I., McLain, J.E. 2017. Searching for antibiotic resistance genes in a pristine Arctic wetland, *Journal of Contemporary Water Research & Education*, 160 (1), 42-59.
- Du, X., Xu, X., Yao, J., Deng, K., Chen, S., Shen, Z., Yang, L., Feng, G. 2019. Predictors of mortality in patients infected with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: a systematic review and meta-analysis, *American journal of infection control*, 47 (9), 1140-1145.
- Džidić, S., Šušković, J., Kos, B. 2008. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects, *Food Technology & Biotechnology*, 46 (1).
- Ehrt, S., Schnappinger, D. 2003. Isolation of plasmids from *E. coli* by alkaline lysis, *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ), 235, 75-78.
- Ekici, K., Körkoca, H., Sancak, Y.C., Atalan, E. 2010. Van ve yöresi içme sularında koliform ve *E. coli* araştırılması, *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29 (2), 21-25.
- Escherich, T. 1885. Die darmbakterien des neugeborenen und sauglings, *Fortschritte der Medizin*, 3, 515-522.
- Figueras, M., Polo, F., Inza, I., Guarro, J. 1997. Past, present and future perspectives of the EU bathing water directive, *Marine pollution bulletin*, 34 (3), 148-156.
- Fourmy, D., Yoshizawa, S., Puglisi, J.D. 1998. Paromomycin binding induces a local conformational change in the A-site of 16 S rRNA, *Journal of molecular biology*, 277 (2), 333-345.
- EFSA. 2011. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or

- AmpC β -lactamases in food and foodproducing animals. *EFSA Journal*, 9 (8), 2322–2417.
- Galimand, M., Sabtcheva, S., Courvalin, P., Lambert, T. 2005. Worldwide disseminated *armA* aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn 1548. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49 (7), 2949-2953.
- Gelpi, A., Gilbertson, A., Tucker, J.D. 2015. Magic bullet: Paul Ehrlich, Salvarsan and the birth of venereology, *Sexually transmitted infections*, 91 (1), 68-69.
- Grare, M., Mourer, M., Fontanay, S., Regnouf-de-Vains, J.-B., Finance, C., Duval, R.E. 2007. In vitro activity of para-guanidinoethylcalix [4] arene against susceptible and antibiotic-resistant Gram-negative and Gram-positive bacteria, *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60 (3), 575-581.
- Green, D.H., Lewis, G.D., Rodtong, S., Loutit, M.W. 1991. Detection of faecal pollution in water by an *Escherichia coli uidA* gene probe, *Journal Of Microbiological Methods*, 13 (4), 207-214.
- Griffey, R.H., Hofstadler, S.A., Sannes-Lowery, Kr.A., Ecker, D.J., Crooke, S.T. 1999. Determinants of aminoglycoside-binding specificity for rRNA by using mass spectrometry, *Proceedings of the national academy of sciences*, 96 (18), 10129-10133.
- Gomes, A.R., Muniyappa, L., Krishnappa, G., Suryanarayana, V.V.S., Isloor, S., Prakash, B., Hugar, P.G. 2005. Genotypic characterization of avian *Escherichia coli* by random amplification of polymorphic DNA, *Int. J. Poult. Sci*, 4 (6), 378-381.
- Guzman-Otazo, J., Gonzales-Siles, L., Poma, V., Bengtsson-Palme, J., Thorell, K., Flach, C.-F., Iñiguez, V., Sjöling, Å. 2019. Diarrheal bacterial pathogens and multi-resistant enterobacteria in the Choqueyapu River in La Paz, Bolivia, *PLoS One*, 14 (1), e0210735.
- Haas, L. 1999. Papyrus of Ebers and Smith, *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 67 (5), 578-578.
- Hall, B.G., Barlow, M. 2004. Evolution of the serine β -lactamases: past, present and future, *Drug Resistance Updates*, 7 (2), 111-123.
- Hamelin, K., Bruant, G., El-Shaarawi, A., Hill, S., Edge, T.A., Fairbrother, J., Harel, J., Maynard, C., Masson, L., Brousseau, R. 2007. Occurrence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* isolates from different aquatic ecosystems within the St. Clair River and Detroit River areas, *Applied and environmental microbiology*, 73 (2), 477-484.
- Hannah, E.L., Johnson, J.R., Angulo, F., Haddadin, B., Williamson, J., Samore, M. H. 2009. Molecular analysis of antimicrobial-susceptible and-resistant *Escherichia coli* from retail meats and human stool and clinical specimens in a rural community setting, *Foodborne Pathogens And Disease*, 6 (3), 285-295.
- Hawkey, P.M., Jones, A.M. 2009. The changing epidemiology of resistance, *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 64 (suppl_1), i3-i10.
- Higgins, P., Fluit, A., Schmitz, F. 2003. Fluoroquinolones: structure and target sites, *Current drug targets*, 4 (2), 181-190.

- Hill, G.L. (2016), "Investigating wastewater treatment plant impact on antibiotic resistance within UK river systems", Doktoral, *Life Sciences*, University of Warwick, Coventry, 318.
- Hopkins, K.L., Davies, R.H., Threlfall, E.J. 2005. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments, *International journal of antimicrobial agents*, 25 (5), 358-373.
- Hutchings, M.I., Truman, A.W., Wilkinson, B. 2019. Antibiotics: past, present and future, *Current opinion in microbiology*, 51, 72-80.
- Jacoby, G., Munoz-Price, L. 2005. The new β -lactamases, *New England Journal of Medicine*, 352 (4), 380-391.
- Johnson, J. Y.M., Thomas, J.E., Graham, T.A., Townshend, I., Byrne, J., Selinger, L.B., Gannon, V.P.J. 2003. Prevalence of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* spp. in surface waters of southern Alberta and its relation to manure sources, *Canadian Journal Of Microbiology*, 49 (5), 326-335.
- Johnston, C., Martin, B., Fichant, G., Polard, P., Claverys, J.-P. 2014. Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control, *Nature Reviews Microbiology*, 12 (3), 181-196.
- Joshi, S.G., Litake, G.M. 2013. *Acinetobacter baumannii*: An emerging pathogenic threat to public health, *World Journal of Clinical Infectious Diseases*, 3 (3), 25-36.
- Kahlmeter, G., Brown, D., Goldstein, F., MacGowan, A., Mouton, J., Odenholt, I., Rodloff, A., Soussy, C.J., Steinbakk, M., Soriano, F. 2006. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) technical notes on antimicrobial susceptibility testing, Wiley Online Library.
- Kankur, F. 2017. "İstanbul Anadolu yakasında içme-kullanma sularından membran filtrasyon yöntemi ile izole edilen *Escherichia coli* suşlarında O157 varlığının araştırılması/The evolution of O157 in *Escherichia coli* which isolated with membrane filtration method in drinking-use waters in Istanbul Anatolia" Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimler Enstitüsü*, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, 77.
- Karim, A., Poirel, L., Nagarajan, S., Nordmann, P. 2001. Plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence IS Ecp1, *FEMS microbiology letters*, 201 (2), 237-241.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*, *Nature reviews microbiology*, 2 (2), 123-140.
- Kapoor, G., Saigal, S., Elongavan, A. 2017. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians, *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 33 (3), 300.
- Katayama, J., Nouguchi, N. 1999. Nucleotide sequence of the gene cluster containing the *mphB* gene for macrolide 2'-phosphotransferase II, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22 (2), 227-228.
- Katz, L., Baltz, R.H. 2016. Natural product discovery: past, present, and future, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43 (2-3), 155-176.

- Kayış, Büyükkaya, F. 2022. Atatürk Baraj Gölünden (Adıyaman) İzole Edilen *Escherichia coli* Bakterilerinde Antibiyotik Dirençlilik Profili, *Commagene Journal of Biology*, 6 (1), 105-109.
- Kistemann, T., Claßen, T., Koch, C., Dangendorf, F., Fischeder, R., Gebel, J., Vacata, V., Exner, M. 2002. Microbial load of drinking water reservoir tributaries during extreme rainfall and runoff, *Applied and environmental microbiology*, 68 (5), 2188-2197.
- Koksal, F., Oguzkurt, N., Samastı, M., Altas, K. 2007. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Aeromonas* strains isolated from drinking water samples in Istanbul, Turkey, *Chemotherapy*, 53 (1), 30-35.
- Kong, K.F., Schneper, L., Mathee, K. 2010. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology, *Apmis*, 118 (1), 1-36.
- Kozan, S.T. (2020), " Obruk baraj gölünün bakteriyolojik özelliklerinin çevre koşulları ile değerlendirilmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Hitit Üniversitesi, Çorum, 69.
- Kümmerer, K. 2009. Antibiotics in the aquatic environment—a review—part II, *Chemosphere*, 75 (4), 435-441.
- 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.
- Leshner, G.Y., Froelich, E.J., Gruett, M.D., Bailey, J.H., Brundage, R.P. 1962. 1, 8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents, *Journal of Medicinal Chemistry*, 5 (5), 1063-1065.
- Lewis, R. 1995. The rise of antibiotic-resistant infections, *FDA Consum*, 29 (7), 11-15.
- Lewis, K. 2013. Platforms for antibiotic discovery, *Nature Reviews Drug Discovery*, 12 (5), 371-387.
- Li, J., Nation, R. L., Turnidge, J.D., Milne, R.W., Coulthard, K., Rayner, C.R., Paterson, D.L. 2006. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections, *The Lancet Infectious Diseases*, 6 (9), 589-601.
- Liberatore, A., Moreira, F., Gomes, T.A.T., Menchaca-Diaz, J., Koh, I.H.J. 2011. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* bacterial translocation associated with tissue hypoperfusion in rats, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 44, 1018-1024.
- Llano-Sotelo, B., Hickerson, R. P., Lancaster, L., Noller, H.F., Mankin, A.S. 2009. Fluorescently labeled ribosomes as a tool for analyzing antibiotic binding, *RNA Society*, 15 (8), 1597-1604.
- Liu, L., Phanikumar, M.S., Molloy, S.L., Whitman, R.L., Shively, D.A., Nevers, M.B., Schwab, D.J., Rose, J.B. 2006. Modeling the transport and inactivation of *E. coli* and enterococci in the near-shore region of Lake Michigan, *Environmental science & technology*, 40 (16), 5022-5028.
- Liu, Y.-Y., Wang, Y., Walsh, T.R., Yi, L.-X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance

- mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study, *The Lancet Infectious Diseases*, 16 (2), 161-168.
- Lupo, A., Coyne, S., Berendonk, T.U. 2012. Origin and evolution of antibiotic resistance: the common mechanisms of emergence and spread in water bodies, *Frontiers in microbiology*, 3, 18.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., 2014. Brock biology of microorganisms. 14 ed, *Boston: Pearson*, 2014.
- Marchiaro, P., Ballerini, V., Spalding, T., Cera, G., Mussi, M.A., Moran-Barrio, J., Vila, A.J., Viale, A.M., Limansky, A.S. 2008. A convenient microbiological assay employing cell-free extracts for the rapid characterization of Gram-negative carbapenemase producers, *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(2), 336-344.
- Martins, M.T., Rivera, I.G., Clark, D.L., Stewart, M.H., Wolfe, R.L., Olson, B.H. 1993. Distribution of uidA gene sequences in Escherichia coli isolates in water sources and comparison with the expression of beta-glucuronidase activity in 4-methylumbelliferyl-beta-D-glucuronide media, *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (7), 2271-2276.
- Mary, P., Defives, C., Hornez, J. 2000. Occurrence and multiple antibiotic resistance profiles of non-fermentative Gram-negative microflora in five brands of non-carbonated French bottled spring water, *Microbial ecology*, 39 (4), 322-329.
- Mieszkin, S., Furet, J.-P., Corthier, G., Gourmelon, M. 2009. Estimation of pig fecal contamination in a river catchment by real-time PCR using two pig-specific Bacteroidales 16S rRNA genetic markers, *Applied and environmental microbiology*, 75 (10), 3045-3054.
- Miyagi, K., Hirai, I. 2019. A survey of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in environmental water in Okinawa Prefecture of Japan and relationship with indicator organisms, *Environmental Science and Pollution Research*, 26 (8), 7697-7710.
- Mustafa, N. (2020). "Poyrazlar Gölü'nün Mikrobiyolojik Kirlilik Seviyesinin Belirlenmesi" , Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, 58.
- Nagulapally, S.R. (2007), "Antibiotic resistance patterns in municipal wastewater bacteria", Master, *Civil Engineering*, Kansas State University, Manhattan, Kansas, 89.
- Naas, T., Nordmann, P. 1999. OXA-Type β -Lactamases, *Current pharmaceutical design*, 5, 865-880.
- Nataro, J.P., Kaper, J.B. 1998. Diarrheagenic escherichia coli, *Clinical microbiology reviews*, 11 (1), 142-201.
- Nazarian, P., Tran, F., Boedicker, J.Q. 2018. Modeling multispecies gene flow dynamics reveals the unique roles of different horizontal gene transfer mechanisms, *Frontiers in microbiology*, 9, 2978.
- Nelson, D.L., Lehninger, A.L., Cox, M.M., 2017, *Lehninger principles of biochemistry*. 7 ed, *Macmillan*,

- Nodoushan, S.A.H., Yadegari, S., Moghim, S., Isfahani, B.N., Fazeli, H., Poursina, F., Nasirmoghadas, P., Safaei, H.G. Erratum: Distribution of the Strains of Multidrug-resistant, Extensively Drug-resistant, and Pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Burn Patients.
- O'Neill, J. 2016. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations.
- Organization, W.H. 2018. Monitoring global progress on addressing antimicrobial resistance: analysis report of the second round of results of AMR country self-assessment survey 2018.
- Otazo, G.J., C. (2019), "Bacterial communities and antibiotic resistance in human-impacted water environments", Doctoral Thesis, *Microbiology*, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden, 60.
- Otten, H. 1986. Domagk and the development of the sulphonamides, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 17 (6), 689-690.
- Öztürk, M., Türkyılmaz, S. 2017. Investigation of plasmid profiles of *Enterococcus faecalis* isolated from mastitic cow milks, *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 33 (1), 54-59.
- Pal, C., Asiani, K., Arya, S., Rensing, C., Stekel, D.J., Larsson, D.G.J., Hobman, J.L. 2017. Chapter Seven - Metal Resistance and Its Association With Antibiotic Resistance. in: *Advances in Microbial Physiology*, (Ed.) R.K. Poole, Vol. 70, Academic Press, pp. 261-313.
- Perreten, V., Boerlin, P. 2003. A new sulfonamide resistance gene (sul3) in *Escherichia coli* is widespread in the pig population of Switzerland, *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 47 (3), 1169-1172.
- Peterson, A.A., Hancock, R.E., McGroarty, E.J. 1985. Binding of polycationic antibiotics and polyamines to lipopolysaccharides of *Pseudomonas aeruginosa*, *Journal Of Bacteriology*, 164 (3), 1256-1261.
- Pitout, J., Nordmann, P., Laupland, K., Poirel, L. 2005. Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community, *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 56 (1), 52-59.
- Pitout, J.D., Laupland, K.B. 2008. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern, *The Lancet infectious diseases*, 8 (3), 159-166.
- Poirel, L., Jayol, A., Nordmann, P. 2017. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes, *Clinical microbiology reviews*, 30 (2), 557-596.
- Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., Schwarz, S. 2020. Antimicrobial *Escherichia coli* Resistance in, *Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals*, 289.
- Porta, M., Last, J.M., 2018, A Dictionary of Public Health (2 ed.). 2 ed, *Oxford University Press*, Oxford University Press,
- Prescott, J.F. 2014. The resistance tsunami, antimicrobial stewardship, and the golden age of microbiology, *Veterinary microbiology*, 171 (3-4), 273-278.

- Pruden, A., Pei, R., Storteboom, H., Carlson, K.H. 2006. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado, *Environmental science & technology*, 40 (23), 7445-7450.
- Raetz, C.R.H., Reynolds, C.M., Trent, M.S., Bishop, R.E. 2007. Lipid A modification systems in gram-negative bacteria, *Annu. Rev. Biochem.*, 76, 295-329
- Ramirez, M.S., Tolmasky, M.E. 2010. Aminoglycoside modifying enzymes, *Drug resistance updates*, 13 (6), 151-171.
- Recchia, G.D., Hall, R.M. 1995. Gene cassettes: a new class of mobile element, *Microbiology*, 141 (12), 3015-3027.
- Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargrett, N.T. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype, *New England journal of medicine*, 308 (12), 681-685.
- Roberts, M.C., Sutcliffe, J., Courvalin, P., Jensen, L.B., Rood, J., Seppala, H. 1999. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 43 (12), 2823-2830.
- Rodríguez-Martínez, J. M., Machuca, J., Cano, M.E., Calvo, J., Martínez-Martínez, L., Pascual, A. 2016. Plasmid-mediated quinolone resistance: two decades on, *Drug Resistance Updates*, 29, 13-29.
- Radu, S., Ling, O. W., Rusul, G., Karim, M. I.A., Nishibuchi, M. 2001. Detection of *Escherichia coli* O157: H7 by multiplex PCR and their characterization by plasmid profiling, antimicrobial resistance, RAPD and PFGE analyses, *Journal of Microbiological Methods*, 46 (2), 131-139.
- Ruppé, É., Woerther, P.-L., Barbier, F. 2015. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli, *Annals of intensive care*, 5 (1), 1-15.
- Savage, D.C. 1977. Microbial ecology of the gastrointestinal tract, *Annual review of microbiology*, 31 (1), 107-133.
- Savard, P., Perl, T.M. 2012. A call for action: managing the emergence of multidrug-resistant Enterobacteriaceae in the acute care settings, *Current opinion in infectious diseases*, 25 (4), 371-377.
- Schwarz, S., Kehrenberg, C., Doublet, B., Cloeckaert, A. 2004. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol, *FEMS Microbiology Review*, 28 (5), 519-542.
- Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B., Obst, U. 2003. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms, *FEMS Microbiology Ecology*, 43 (3), 325-335.
- Serwecińska, L. 2020. Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health, *Water*, 12 (12), 3313.
- Serwecińska, L., Kiedrzyńska, E., Kiedrzyński, M. 2021. A catchment-scale assessment of the sanitary condition of treated wastewater and river water based on fecal indicators and carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp, *Science of The Total Environment*, 750, 142266.

- Sivri, N., Akbulut, V. 2016. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* strains collected from the southwestern coast of Istanbul, *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 13 (2), 785-793.
- Sköld, O. 2000. Sulfonamide resistance: mechanisms and trends, *Drug Resistance Updates*, 3 (2), 155-160.
- Sturgill, M.G., Rapp, R.P. 1992. Clarithromycin: review of a new macrolide antibiotic with improved microbiologic spectrum and favorable pharmacokinetic and adverse effect profiles, *Annals of Pharmacotherapy*, 26 (9), 1099-1108
- Suardana, I. W., Artama, W.T., Widiasih, D.A., Mahardika, I. 2013. Genetic diversity of *Escherichia coli* O157: H7 strains using random amplified polymorphic DNA (RAPD), *Int Res J Microbiol*, 4 (2), 72-78.
- Sussman, M., 1997, *Escherichia coli: mechanisms of virulence*, Cambridge University Press, UK, 655.
- Tirziu, E., Lazăr, R., Sala, C., Nichita, I., Morar, A., Şereş, M., Imre, K. .2015. Salmonella in raw chicken meat from the Romanian seaside: frequency of isolation and antibiotic resistance, *Journal of food protection*, 78 (5), 1003-1006.
- Turner, K.M., Restaino, L., Frampton, E.W. 2000. Efficacy of chromocult coliform agar for coliform and *Escherichia coli* detection in foods, *Journal Of Food Protection*, 63 (4), 539-541.
- van Essen-Zandbergen, A., Smith, H., Veldman, K., Mevius, D. 2009. In vivo transfer of an incFIB plasmid harbouring a class 1 integron with gene cassettes dfrA1-aadA1, *Veterinary Microbiology*, 137 (3-4), 402-407.
- Ventola, C.L. 2015. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats, *Pharmacy and therapeutics*, 40 (4), 277.
- Von Wintersdorff, C.J., Penders, J., Van Niekerk, J.M., Mills, N.D., Majumder, S., Van Alphen, L.B., Savelkoul, P.H., Wolffs, P.F. 2016. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer, *Frontiers in microbiology*, 7, 173.
- Waksman, S.A., Schatz, A., Reynolds, D.M. 2010. Production of antibiotic substances by actinomycetes, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1213 (1), 112.
- Wambugu, P.W. (2016), "Antimicrobial Resistance Profiles and Genetic Characterization of *Escherichia coli* Isolated From Water in Athi River, Machakos", Master, *Medical Microbiology*, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, JujaNairobi, 117.
- Wang, H., Dzink-Fox, J.L., Chen, M., Levy, S.B. 2001. Genetic characterization of highly fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* strains from China: role of *acrR* mutations, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45 (5), 1515-1521.
- Wang, M., Tang, J. 2010. Research of antibiotics pollution in soil environments and its ecological toxicity, *J Agro Environ Sci*, 29 (suppl), 261-266.
- Wang, C., Gu, X., Zhang, So., Wang, P., Guo, C., Gu, J., Hou, J. 2013. Characterization of antibiotic-resistance genes in antibiotic resistance *Escherichia coli* isolates from a lake, *Archives Of Environmental Contamination And Toxicology*, 65, 635-641.

- World Health Organization (WHO). Guidelines for Drinking-water Quality - Fourth Edition. Geneva: WHO Press; 2017. (<https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>)
- WHO. 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014.
- WHO. 2006. Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater: Excreta and greywater use in agriculture (Vol. 4). World Health Organization, 4.
- Wilkes, G., Edge, T., Gannon, V., Jokinen, C., Lyautey, E., Medeiros, D., Neumann, N., Ruecker, N., Topp, E., Lapen, D.R. 2009. Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenic bacteria, Cryptosporidium oocysts, Giardia cysts, and hydrological indices for surface waters within an agricultural landscape, *Water research*, 43 (8), 2209-2223.
- Xi, C., Zhang, Y., Marrs, C.F., Ye, W., Simon, C., Foxman, B., Nriagu, J. 2009. Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems, *Applied and environmental microbiology*, 75 (17), 5714-5718.
- Zhang, X.-X., Zhang, T., Fang, H.H. 2009. Antibiotic resistance genes in water environment, *Applied microbiology and biotechnology*, 82 (3), 397-414.
- Zhao, L., Dong, Y.H., Wang, H. 2010. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China, *Science of the Total Environment*, 408 (5), 1069-1075.
- Zieliński, W., Korzeniewska, E., Harnisz, M., Hubeny, J., Buta, M., Rolbiecki, D. 2020. The prevalence of drug-resistant and virulent *Staphylococcus* spp. in a municipal wastewater treatment plant and their spread in the environment, *Environment International*, 143, 105914.
- Zong, Z., Zhang, X. 2013. bla NDM-1-carrying *Acinetobacter johnsonii* detected in hospital sewage, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68 (5), 1007-1010.
- Zuckerman, J.M. 2004. Macrolides and ketolides: azithromycin, clarithromycin, telithromycin, *Infectious Disease Clinics*, 18 (3), 621-649.

EKLER**EK-1** Suşların antibiyotik duyarlılık zon çapları

SUŞ NO	AMPİSİLİN (AM)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	6	6	6	6	R
2	19	19	19	19	S
3	6	6	6	6	R
4	6	6	6	6	R
5	20	18	18	18,66667	S
6	19	19	18	18,66667	S
8	16	16	14	15,33333	S
9	8	7	8	7,66667	R
10	17	18	18	17,66667	S
11	9	7	8	8	R
12	16	18	17	17	S
15	7	7	7	7	R
17	6	6	6	6	R
19	17	18	20	18,33333	S
20	17	16	16	16,33333	S
21	17	16	16	16,33333	S
23	8	7	7	7,33333	R
25	17	19	17	17,66667	S
26	7	7	7	7	R
27	9	8	8	8,33333	R
28	18	17	16	17	S
29	17	17	18	17,33333	S
30	19	19	19	19	S
31	18	18	19	18,33333	S
32	16	15	15	15,33333	S
33	7	7	7	7	R
34	7	8	8	7,66667	R
35	18	16	16	16,66667	S
36	14	15	15	14,66667	S
37	17	16	17	16,66667	S
38	19	20	19	19,33333	S
39	15	17	16	16	S
40	11	16	16	14,33333	S
41	14	15	14	14,33333	S

SUŞ NO	C (KLOROMFENİKOL)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	23	22	25	23,333333	S
2	26	27	25	26	S
3	22	23	24	23	S
4	22	22	21	21,666667	S
5	23	24	24	23,666667	S
6	21	21	21	21	S
8	22	20	21	21	S
9	20	21	21	20,666667	S
10	21	21	20	20,666667	S
11	20	20	20	20	S
12	19	19	20	19,333333	S
15	7	7	7	7	R
17	20	20	20	20	S
19	21	21	21	21	S
20	20	21	20	20,333333	S
21	18	19	19	18,666667	S
23	19	19	20	19,333333	S
25	18	19	19	18,666667	S
26	21	20	19	20	S
27	17	19	19	18,333333	S
28	18	18	19	18,333333	S
29	19	19	20	19,333333	S
30	22	20	21	21	S
31	20	20	19	19,666667	S
32	19	20	19	19,333333	S
33	8	8	8	8	R
34	19	21	19	19,666667	S
35	19	17	19	18,333333	S
36	19	20	19	19,333333	S
37	20	18	18	18,666667	S
38	19	18	18	18,333333	S
39	19	18	18	18,333333	S
40	19	19	19	19	S
41	17	17	17	17	S

SUŞ NO	GENTAMİSİN (CN)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	15	16	16	15,66667	R
2	16	18	18	17,33333	S
3	16	16	17	16,33333	R
4	18	18	16	17,33333	S
5	18	17	17	17,33333	S
6	18	17	19	18	S
8	16	15	16	15,66667	R
9	15	15	16	15,33333	R
10	15	14	16	15	R
11	14	15	14	14,33333	R
12	14	14	15	14,33333	R
15	13	13	13	13	R
17	13	13	13	13	R
19	14	14	13	13,66667	R
20	12	13	13	12,66667	R
21	13	13	13	13	R
23	12	13	13	12,66667	R
25	14	15	20	16,33333	R
26	15	15	16	15,33333	R
27	16	16	16	16	R
28	14	14	14	14	R
29	13	13	14	13,33333	R
30	20	19	20	19,66667	S
31	16	15	16	15,66667	R
32	14	16	15	15	R
33	15	13	15	14,33333	R
34	12	12	13	12,33333	R
35	15	15	14	14,66667	R
36	14	14	13	13,66667	R
37	16	17	16	16,33333	R
38	16	16	15	15,66667	R
39	13	13	12	12,66667	R
40	12	12	12	12	R
41	14	15	15	14,66667	R

SUŞ NO	CİPROFLOKSASİN (CIP)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	21	22	23	22	R
2	31	30	31	30,66667	S
3	21	24	22	22,33333	I
4	22	22	23	22,33333	I
5	25	27	25	25,66667	S
6	28	27	28	27,66667	S
8	29	28	27	28	S
9	8	9	8	8,333333	R
10	33	34	33	33,33333	S
11	22	22	23	22,33333	I
12	30	30	30	30	S
15	25	26	26	25,66667	S
17	21	22	21	21,33333	R
19	21	22	22	21,66667	R
20	22	23	22	22,33333	I
21	22	21	27	23,33333	I
23	20	21	21	20,66667	R
25	29	26	28	27,66667	S
26	21	21	21	21	R
27	31	33	31	31,66667	S
28	25	26	25	25,33333	S
29	34	34	34	34	S
30	31	31	30	30,66667	S
31	24	25	24	24,33333	I
32	23	26	26	25	S
33	19	18	18	18,33333	R
34	21	22	22	21,66667	R
35	27	28	26	27	S
36	29	28	27	28	S
37	30	28	31	29,66667	S
38	25	24	25	24,66667	I
39	31	31	32	31,33333	S
40	29	28	28	28,33333	S
41	30	30	31	30,33333	S

SUŞ NO	ERİTROMİSİN (E)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	7	7	7	7	R
2	13	13	12	12,66666667	R
3	6	6	7	6,333333333	R
4	7	7	6	6,666666667	R
5	8	8	8	8	R
6	10	11	12	11	R
8	12	13	11	12	R
9	6	6	7	6,333333333	R
10	9	8	8	8,333333333	R
11	*	6	6	6	R
12	*	*	*	*	R
15	9	9	11	9,666666667	R
17	*	6	6	6	R
19	8	8	8	8	R
20	10	10	9	9,666666667	R
21	7	7	8	7,333333333	R
23	6	*	*	*	R
25	7	8	8	7,666666667	R
26	6	6	6	6	R
27	8	8	8	8	R
28	7	9	7	7,666666667	R
29	8	9	8	8,333333333	R
30	10	9	10	9,666666667	R
31	10	8	10	9,333333333	R
32	10	11	10	10,333333333	R
33	10	10	9	9,666666667	R
34	8	8	8	8	R
35	8	8	8	8	R
36	9	9	9	9	R
37	12	11	12	11,66666667	R
38	9	6	7	7,333333333	R
39	7	7	7	7	R
40	6	7	6	6,333333333	R
41	6	7	6	6,333333333	R

SUŞ NO	KANAMİSİN (K)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	15	15	16	15,33333333	I
2	18	17	17	17,33333333	I
3	15	15	15	15	I
4	16	16	15	15,66666667	I
5	16	15	17	16	I
6	15	15	16	15,33333333	I
8	16	14	17	15,66666667	I
9	14	14	15	14,33333333	I
10	14	14	13	13,66666667	R
11	14	14	14	14	I
12	15	14	13	14	I
15	12	13	12	12,33333333	R
17	13	13	13	13	R
19	14	15	14	14,33333333	I
20	12	14	14	13,33333333	R
21	14	13	13	13,33333333	R
23	13	12	13	12,66666667	R
25	15	16	18	16,33333333	I
26	14	14	15	14,33333333	I
27	15	14	14	14,33333333	I
28	13	14	14	13,66666667	R
29	13	13	13	13	R
30	16	16	16	16	I
31	16	14	14	14,66666667	I
32	13	14	12	13	R
33	14	13	13	13,33333333	R
34	13	13	13	13	R
35	14	15	14	14,33333333	I
36	13	12	12	12,33333333	R
37	14	14	14	14	I
38	13	12	12	12,33333333	R
39	11	11	13	11,66666667	R
40	11	10	11	10,66666667	R
41	12	12	12	12	R

SUŞ NO	RİFAMPİSİN (RA)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	9	10	9	9,333333	R
2	8	7	8	7,666667	R
3	9	9	8	8,666667	R
4	11	10	11	10,66667	R
5	7	7	7	7	R
6	12	13	12	12,33333	R
8	6	6	6	6	R
9	7	7	7	7	R
10	8	8	9	8,333333	R
11	8	7	8	7,666667	R
12	7	7	7	7	R
15	10	8	10	9,333333	R
17	8	8	8	8	R
19	11	10	11	10,66667	R
20	7	7	7	7	R
21	9	8	9	8,666667	R
23	10	10	10	10	R
25	9	9	8	8,666667	R
26	6	6	7	6,333333	R
27	8	7	7	7,333333	R
28	8	7	7	7,333333	R
29	7	8	8	7,666667	R
30	9	10	12	10,33333	R
31	8	9	8	8,333333	R
32	11	10	10	10,33333	R
33	6	6	7	6,333333	R
34	8	8	9	8,333333	R
35	10	10	10	10	R
36	7	7	7	7	R
37	12	13	12	12,33333	R
38	10	11	11	10,66667	R
39	8	9	10	9	R
40	8	8	8	8	R
41	10	10	10	10	R

SUŞ NO	SÜLFAMETAKSAZOL (SMZ)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	21	19	18	19,33333	S
2	10	12	17	13	I
3	10	9	9	9,333333	R
4	10	10	8	9,333333	R
5	13	12	12	12,33333	R
6	12	13	15	13,33333	I
8	18	15	17	16,66667	I
9	8	8	8	8	R
10	11	13	13	12,33333	R
11	11	9	9	9,666667	R
12	8	7	9	8	R
15	9	7	9	8,333333	R
17	9	8	7	8	R
19	11	12	12	11,66667	R
20	8	8	9	8,333333	R
21	9	11	12	10,66667	R
23	8	8	10	8,666667	R
25	13	13	10	12	R
26	9	10	11	10	R
27	10	9	11	10	R
28	19	10	8	12,33333	R
29	12	11	12	11,66667	R
30	22	10	15	15,66667	I
31	26	26	21	24,33333	S
32	8	9	9	8,666667	R
33	7	7	8	7,333333	R
34	11	12	10	11	R
35	12	14	10	12	R
36	9	10	8	9	R
37	20	20	24	21,33333	S
38	22	19	24	21,66667	S
39	10	17	12	13	I
40	17	18	11	15,33333	I
41	13	10	10	11	R

SUŞ NO	TETRASİKLİN (TE)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	17	15	18	16,66667	I
2	15	17	15	15,66667	I
3	18	18	17	17,66667	I
4	6	7	6	6,333333	R
5	17	17	15	16,33333	I
6	12	14	14	13,33333	R
8	14	16	15	15	I
9	6	6	6	6	R
10	15	15	13	14,33333	R
11	*	*	*	*	R
12	*	*	*	*	R
15	*	6	6	6	R
17	*	6	6	6	R
19	13	14	13	13,33333	R
20	12	13	13	12,66667	R
21	14	13	13	13,33333	R
23	*	*	*	*	R
25	6	*	*	6	R
26	13	13	12	12,66667	R
27	12	12	13	12,33333	R
28	13	13	13	13	R
29	6	6	6	6	R
30	12	12	13	12,33333	R
31	13	13	14	13,33333	R
32	13	13	14	13,33333	R
33	7	7	7	7	R
34	7	6	7	6,666667	R
35	13	13	13	13	R
36	14	13	14	13,66667	R
37	13	13	13	13	R
38	14	13	13	13,33333	R
39	13	13	12	12,66667	R
40	13	12	13	12,66667	R
41	13	13	13	13	R

SUŞ NO	VANKOMİSİN (VA)				DİRENÇ DURUMU
	A	B	C	ORT	
1	7	7	7	7	R
2	*	6	*	6	R
3	7	6	7	6,6666667	R
4	9	10	8	9	R
5	6	7	6	6,3333333	R
6	6	*	6	6	R
8	6	*	6	6	R
9	6	6	6	6	R
10	*	*	*	*	R
11	9	9	8	8,6666667	R
12	7	7	8	7,3333333	R
15	6	6	8	6,6666667	R
17	8	8	*	8	R
19	*	*	*	*	R
20	9	10	9	9,3333333	R
21	*	*	*	*	R
23	8	8	10	8,6666667	R
25	*	*	*	*	R
26	*	6	*	6	R
27	6	6	*	6	R
28	*	*	*	*	R
29	8	8	8	8	R
30	6	6	6	6	R
31	9	9	10	9,3333333	R
32	6	*	*	6	R
33	7	7	7	7	R
34	7	6	6	6,3333333	R
35	7	6	7	6,6666667	R
36	7	7	6	6,6666667	R
37	10	10	10	10	I
38	*	*	*	*	R
39	9	9	8	8,6666667	R
40	*	*	*	*	R
41	6	*	6	6	R

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Didem TAŞDELEN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi :
Telefon :
Faks :
e-mail :

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Çankaya 75.Yıl Anadolu Lisesi	2003
Üniversite	: Süleyman Demirel Üniversitesi	2011
Yüksek Lisans	: Muş Alparslan Üniversitesi	2023
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2022	İstanbul 3 Nolu Halk Sağlığı Laboratuvarı	Biyolog
2018-2021	Muş Halk Sağlığı Laboratuvarı	Biyolog
2013-2015	Novagenix AR-GE Biyoanalitik Laboratuvarı	Biyolog
2012-2012	Mikro-Gen Genetik Tanı Merkezi	Biyolog

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

İngilizce (orta)

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR