



T.C.

RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YOĞUN BAKIM HASTALARININ İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN  
İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLI* SUŞLARINDA *F1MH* TEK  
NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİ ARAŞTIRILMASI

DR. SEMA KOÇYİĞİT KALCAN

UZMANLIK TEZİ

RİZE-2018

T.C.  
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YOĞUN BAKIM HASTALARININ İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN  
İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLI* SUŞLARINDA *FIMH* TEK  
NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİ ARAŞTIRILMASI

DR. SEMA KOÇYİĞİT KALCAN

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. AZİZ RAMAZAN DİLEK

UZMANLIK TEZİ

RİZE-2018

Bu alışma için Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 40465587-60 sayı ile etik kurul onayı alınmıştır.

Bu alışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2018-940 proje numarası ile desteklenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Tıbbi Mikrobiyoloji tıpta uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmayı bilgi ve katkılarıyla yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, uzmanlık eğitimim süresinde yetişmemde büyük katkı ve emeği geçen değerli danışman hocam Doç. Dr. Aziz Ramazan DİLEK'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Osman Birol Özgümüş'e, Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI'ya, Doç. Dr. Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK'e, Doç. Dr. Kazım ŞAHİN'e, Dr. Öğr. Üyesi Saliha EKŞİ'ye,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte uyum içinde çalıştığım, bilgi ve tecrübelerini paylaşan sevgili kıdemlim ve şimdiki hocam Dr. Öğr. Üyesi İlkay BAHÇECİ'ye,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli kıdemlim Uzm. Dr. Muhammed Ali MUTLU'ya, Uzm. Dr. Deniz Zehra ULUSAN GÜNDOĞDU'ya, sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Nuray ARSLAN'a, Dr. Hamiyet Büşra GÜLLÜ'ye, Dr. Mustafa ÖZCAN'a, Dr. Korhan GEZDİRİCİ'ye,

Klinik laboratuvarımızda her daim uyum içinde çalıştığımız çok değerli teknisyen arkadaşlarıma ve tüm mesai arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde en büyük emeği olan, hiçbir fedakarlığı esirgemeyen, hayatımın her döneminde yanımda olan sevgili annem Meryem KOÇYİĞİT'e, sevgili babam Refik KOÇYİĞİT'e ve canım kardeşlerim Tuğba KESKİN'e, Nazife KOÇYİĞİT'e, Feyzanur KOÇYİĞİT'e,

Her daim desteği ile yanımda olan, hayatımı birleştirdiğim için şükrettiğim, sonsuz anlayışı ve sevgisi için değerli eşim Dr. Öğr. Üyesi Süleyman KALCAN'a, canımdan bir parça olan sevgili kızım Elif'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Dr. Sema KOÇYİĞİT KALCAN

## ÖZET

### YOĞUN BAKIM HASTALARININ İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLİ* SUŞLARINDA FİMH TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİ ARAŞTIRILMASI

Üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE), insanlarda en sık morbiditeye yol açan ve sağlık alanında ciddi harcamalara neden olan enfeksiyonlardan biridir. Üriner sistem enfeksiyonları üriner sistemin farklı bölümlerini etkiler ve enfeksiyon bölgelerine göre çeşitli hastalık gruplarına ayrılır. Asemptomatik bakteriüriden, sepsise yol açabilecek akut piyelonefrite kadar değişebilen çok farklı klinik formları tanımlar. Üriner sistem enfeksiyonları nozokomial enfeksiyonlar içerisinde de sıklık açısından birinci sırada yer alır. Yoğun bakım ünitelerinde pnömonilerle beraber en sık görülen iki enfeksiyondan biridir. Üropatojenik *Escherichia coli* suşları, üriner sistem enfeksiyonu geçiren hastaların yaklaşık %80'inde birincil patojen olarak kabul edilmektedir. Bakterilerin konak hücrenin yüzeyine yapışması; kolonizasyonun ve enfeksiyonun asıl başlangıç aşamasıdır. Tip1 fimbria adezyonu, üropatojenik *Escherichia coli*'lerin üriner sistem epiteline yapışma mekanizmasında çok önemli olan ve en iyi tanımlanan bakteriyel adezyonlardır. FimH proteini Tip1 fimbriyanın ucunda yer alan yapışma proteindir ve üriner sistemde üropatojenik *Escherichia coli* 'lerin patogenez mekanizmasında önemli bir rol oynar. İdrar yolunun epitel hücrelerinde bulunan  $\alpha$ -D-mannosile edilmiş glikoproteinlere bağlanmaya aracılık eder. FimH alt ünitesinin farklı fenotipik varyantları üriner sistemin kolonizasyonunda ve üriner sistem enfeksiyonu patojenitesinde bakterilere önemli avantajlar sağlar. FimH' nın fenotipik varyantları temel olarak *fimH* genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) sonucudur. Çalışmamızda yoğun bakım hastalarının idrar kültürlerinden izole edilen *E.coli* suşlarında *fimH* gen bölgesindeki olası SNP'lerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamıza Haziran 2017-Haziran 2018 tarihleri arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına enfeksiyon şüphesi ile dahiliye yoğun bakım, cerrahi yoğun

bakım, koroner yoğun bakım, kalp damar cerrahisi yoğun bakım, anaesteziyoloji ve reanimasyon yoğun bakım ünitelerinden gönderilen idrar örneklerinden üreyen 34 *E.coli* suşu dahil edildi. *fimH* pozitif suşlara dizi analizi yapıldı. Sekans sonuçları, *Escherichia coli* ATCC 700415 referans suşu kullanılarak; Clustal 2.1 Multiple Sequence Alignment' te filogenetik analiz yapıldı.

34 *E.coli* suşundan 32 sinde *fimH* pozitif bulundu. 100-500 bp arasında toplam 42 polimorfik bölge saptandı.

Bu SNP'lerin bakterinin virulansına ne tür bir katkı sunduğunu göstermek için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bizim yaptığımız çalışmanın ışığında, FimH proteinlerinin aminoasit dizi analizinin yapılması ve ortaya çıkan değişikliklerin üriner sistemin epitel hücrelerine yapışma eğilimleri üzerine etkisinin belirlenmesinin patogenezin anlaşılmasına çok büyük katkılarının olacağına inanmaktayız.

**Anahtar Kelimeler:** Üriner sistem enfeksiyonu, *Escherichia coli*, *fimH*, SNP

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF FIMH SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM IN ESCHERICHIA COLI STRAINS ISOLATED FROM URINARY CULTURES OF INTENSIVE CARE PATIENTS

Urinary tract infections (UTI) are among the most common causes of morbidity in humans and cause serious expenditures in health cost. UTI affect different parts of the urinary system and are divided into disease groups accordingly. UTI identify very different clinical forms which may vary from asymptomatic bacteriuria to acute pyelonephritis which may lead to sepsis. UTI rank first in terms of frequency among nosocomial infections together with pneumonia, they are the most common infections in intensive care units. Uropathogenic *Escherichia coli* strains are considered as the primary pathogens in approximately 80% of patients with UTI. The initial stage of colonization and infection involve bacteria adhering to the surface of the host cell. The type 1 fimbria of uropathogenic *Escherichia coli* is the most important and well-defined bacterial structure facilitating adhesion to the urinary tract epithelium. The tip of the type 1 fimbria is formed by the fimH protein, which is one of the virulence factors for uropathogenesis. FimH mediates the binding of Type 1 fimbria to the  $\alpha$ -D-mannosylated glycoproteins in the epithelial cells of the urinary tract. Different phenotypic variants of the FimH subunit provide significant advantages to bacteria in the colonization and the pathogenesis. Phenotypic variants of FimH result mainly from single nucleotide polymorphisms (SNP) of the *fimH* gene. In our study, it was aimed to determine possible SNPs in the *fimH* gene region in *E. coli* strains isolated from urine cultures of intensive care patients.

In this study, 34 *Escherichia coli* strains were isolated from urine samples sent from the intensive care units of internal medicine, surgery, cardiology, cardiovascular surgery, anaesthesiology and reanimation with suspicion of infection to the Microbiology Laboratory between June 2017 and June 2018 were included. Sequencing was performed for the *fimH* positive strains. Using the sequence of *Escherichia coli* ATCC 700415 as

reference, phylogenetic analysis was performed in Clustal 2.1 Multiple Sequence Alignment.

*fimH* was positive in 32 of 34 *E. coli* strains. A total of 42 polymorphic regions were detected that lied between 100-500 bp.

Further studies are required to demonstrate the extent to which these SNPs contribute to the virulence of bacteria. In light of this study, we believe that the amino acid sequence variations of the FimH proteins can be matched with their adherence potency to th epithelial cells and thus their contribution to uropathogenesis.

**Keywords:** Urinary tract infection, *Escherichia coli*, *fimH*, SNP



# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
ÖZET .....	ii
ABSTRACT .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları .....	2
2.1.1.Tanımlar .....	3
2.1.2. Etken Mikroorganizmalar .....	4
2.1.3. Patogenez .....	6
2.1.4. Laboratuvar Tanısı .....	7
2.1.5. Yoğun Bakım Hastalarında Üriner Sistem Enfeksiyonları .....	14
2.2. <i>Escherichia coli</i> .....	16
2.2.1. Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri.....	16
2.2.2. Antijenik Yapısı.....	19
2.2.3. Virulans Faktörleri ve Patogenezi .....	21
2.2.4. Epidemiyolojisi ve Yaptığı Enfeksiyonlar .....	28
2.2.5. <i>E.coli</i> 'de Direnç.....	31
2.3. FimH.....	31
3. MATERYAL METOD .....	36
3.1. Bakterilerin Seçimi .....	36
3.2. DNA (Deoksiribonükleik asit) İzolasyonu .....	39
3.3. PCR Çalışması .....	39
4. BULGULAR .....	42
5. TARTIŞMA .....	51
6. KAYNAKLAR .....	54

7. ÖZGEÇMİŞ.....	67
------------------	----



## ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

**Şekil 1:** Kalıcı kataterden idrar örneği alınması

**Şekil 2:** Suprapubik aspirasyonla idrar örneği alınması

**Şekil 3:** Kantitatif idrar kültürü ekimi

**Şekil 4:** Azaltma yöntemiyle ekim

**Şekil 5:** MacConkey agarda *E.coli*

**Şekil 6:** *E.coli* IMViC testleri

**Şekil 7:** *E.coli* antijenik yapısı

**Şekil 8:** Mannoz duyarlı hemaglutinasyon (Tip1 fimbria)

**Şekil 9:** Biofilm oluşumu

**Şekil 10:** Katater duvarı ve üretral duvarda biyofilm oluşumu

**Şekil 11:** Tip 1 fimbrianın(A) elektron mikrografı ve (B)'chaperone-usher'yolu

**Şekil 12:** Tip 1 fimbria; FimH N-terminal alanı (HL) ve C-terminal alanı (HP)

**Şekil 13:** FimH-üroplakin bağlanması

**Şekil 14:** IBC(intracellular bacterial communities) oluşumu

**Şekil 15:** Çalışmamızdan agaroz jel görüntüsü

**Şekil 16:** 101 –150 bp arası sekans dizisi

**Şekil 17:** 151-200 bp arası sekans dizisi

**Şekil 18:** 201-250 bp arası sekans dizisi

**Şekil 19:** 251-300 bp arası sekans dizisi

**Şekil 20:** 301-350 bp arası sekans dizisi

**Şekil 21:** 351-400 bp arası sekans dizisi

**Şekil 22:** 401-450 bp arası sekans dizisi

**Şekil 23:** 451-500 bp arası sekans dizisi

**Şekil 24:** *fimH(+)* suşların ve referans suşun 'guide tree' si

**Şekil 25:** Filogenetik ağaç

**Şekil 26:** *fimH* (+) suşların ve referans suşun yüzde benzerlik matrisi

**Resim 1:** Çalışmamızdan idrar kültüründe üreyen *E. coli*

**Resim 2:** Çalışmamızdan *E. coli* biyokimyasal testleri



## TABLÖLAR DİZİNİ

**Tablo 1:** İdrarda üreyen mikroorganizmaların değerlendirilmesi

**Tablo 2:** *E. coli* ve diğer enterik basillerin IMViC testleri

**Tablo 3:** Her bir PCR reaksiyonun içeriği

**Tablo 4:** *fimH* primerleri

**Tablo 5:** *fimH* PCR döngüleri



## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ÜSE:** Üriner sistem enfeksiyonu
- UPEC:** Üropatojenik *Escherichia coli*
- SNP:** Single Nükleotide Polimorfizmi
- ExPEC:** Ekstraintestinal patojenik *E.coli*
- EMB:** Eozin metilen blue
- KKA:** Koyun kanlı agar
- CFU:** Colony Forming Unit
- Afa:** Afimbrial adhesin
- ADT:** Antimikrobiyal duyarlılık testi
- NHSN:** National Healthcare Safety Network
- LT:** Labil toksin
- ST:** Stabil toksin
- Stx:** Shigalike toksin
- ETEC:** Enterotoksijenik *Escherichia coli*
- EHEC:** Enterohemorajik *Escherichia coli*
- EIEC:** Enteroinvazif *Escherichia coli*
- EPEC:** Enteropatojenik *Escherichia coli*
- EaggEC:** Enteroaggregatif *Escherichia coli*
- MSHA:** Mannoza duyarlı hemaglütinasyon
- MRHA:** Mannoza dirençli hemaglütinasyon
- IBC:** Intracellular bacterial communities
- TSI:** Triple sugar iron
- LB:** Luria-Bertani Buyyon
- DNA:** Deoksiribonükleik asit

**PCR:** Polimerase chain reaction

**TAE:** Tris -Asetik asit - EDTA

**EDTA:** Etilendiamin tetraasetik asit

**ATCC:** American Type Culture collection

**BP:** Base pair

**TLR:** Toll-like reseptör



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE), doku invazyonu ile birlikte mikroorganizmaların üriner sistemin bir veya birden fazla bölgesinde çoğalmasdır. ÜSE en sık karşılaşılan enfeksiyon hastalıklarından biridir. Dünyada ve ülkemizde sağlık alanında ciddi harcamalara neden olur<sup>1</sup>. Yoğun bakım ünitelerinde pnömonilerle beraber en sık görülen iki enfeksiyondan biridir<sup>2</sup>. Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC) suşları, ÜSE geçiren hastaların yaklaşık %80'inde birincil patojen olarak kabul edilmektedir<sup>3</sup>. UPEC'in üriner sistemde enfeksiyon oluşturmaya sebep olan fimbrial adezinler, afimbrial adezinler, hemolizin, sideroforlar gibi çeşitli virulans faktörleri vardır. Bakterilerin konak hücrenin yüzeyine yapışması; kolonizasyonun ve enfeksiyonun asıl başlangıç aşamasıdır. Tip1 fimbria adezyonu, UPEC'lerin üriner sistem epiteline yapışma mekanizmasında çok önemli olan ve en iyi tanımlanan bakteriyel adezyonlardır. FimH proteini Tip1 fimbriyanın ucunda yer alan yapışma proteindir ve üriner sistemde UPEC'lerin patogenezi mekanizmasında önemli bir rol oynar. İdrar yolunun epitel hücrelerinde bulunan  $\alpha$ -D-mannosile edilmiş glikoproteinlere bağlanmaya aracılık eder<sup>4,5</sup>. UPEC patogenezi ile ilgili yapılan çalışmalarda *fimH* geni bulunma sıklığı yüksek oranlarda bulunmuştur<sup>6</sup>. FimH alt ünitesinin farklı fenotipik varyantlarının, üriner sistemin kolonizasyonunda ve ÜSE patojenitesinde bakterilere önemli avantajlar sağladığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir<sup>7,8</sup>. FimH'nin fenotipik varyantları temel olarak *fimH* genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) sonucu oluşmuştur<sup>9</sup>.

Çalışmamızda yoğun bakım hastalarının idrar kültürlerinden izole edilen *E. coli* suşlarında *fimH* gen bölgesindeki olası SNP'lerin belirlenmesi amaçlanmıştır.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Üriner sistem; böbrekler, renal pelvis, ve üreterlerden oluşan üst üriner sistem ile mesane ve üretrayı içeren alt üriner sistem olmak üzere iki bölüme ayrılarak incelenir<sup>10</sup>. Normal koşullar altında üriner sistemi oluşturan böbrekler, üreter ve mesane sterildir ve idrar da steril bir vücut sıvısıdır. Ancak idrar; perine, prostat, üretra veya vajende yerleşen mikroorganizmalar ile kolayca kontamine olabilir. ÜSE, doku invazyonu ile birlikte mikroorganizmaların üriner sistemin bir veya birden fazla bölgesinde çoğalmasındır<sup>1</sup>. Asemptomatik bakteriüriden sepsise yol açabilecek akut piyelonefrite kadar değişebilen çok farklı klinik formları tanımlar<sup>11</sup>.

ÜSE en sık karşılaşılan enfeksiyon hastalıklarından biridir. Her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde ÜSE şikayeti ile sekiz milyon kişi klinik veya acil bölümlere başvurmakta ve bunlardan 100.000'i hastanede yatarak tedavi görmektedirler. Bu hastaların %15'ine antibiyotik tedavisi verilmekte ve yıllık maliyeti 1.6 milyar doları bulmaktadır. Ülkemizde de ÜSE maliyetinin yüksek olduğu düşünülmekte fakat elimizde istatistiksel bir veri henüz bulunmamaktadır<sup>1</sup>.

ÜSE prevalansı hastanın yaşına ve cinsiyetine göre değişiklik gösterir. Yenidoğan ve bebeklerde üriner sistem enfeksiyonu prevalansı %1 kadardır ve daha çok erkek çocuklarda görülür. Bu enfeksiyonların çoğu konjenital anomaliler ile ilişkilidir. Okul çağı ve çocukluk döneminde, kız çocuklarda erkek çocuklara göre daha yüksek prevalans vardır<sup>10</sup>. Bu oran erişkin döneminde de aynı kalır. Kadınların %40-50'si yaşamlarının bir döneminde en az bir kez ÜSE geçirmekte ve bunların %20'sinde de takip eden ilk 6 ay içerisinde ÜSE tekrar etmektedir<sup>12</sup>. Yaşlılarda bazı hazırlayıcı faktörler nedeniyle hem kadınlarda (%20) hem erkeklerde (%10) yüksek oranlar görülmesi beklenebilir<sup>10</sup>.

Üriner sistem enfeksiyonlarının etyolojik ajanları genellikle hastaların kendi bağırsak florasına ait olan bakterilerle sınırlıdır. *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Klebsiella-Enterobacter* spp., ve *Proteus* spp gibi izolatlar hastanede yatan hastalar veya poliklinik hastalarından elde edilenlerin çoğunluğunu oluşturur<sup>13</sup>.

### 2.1.1.Tanımlar

**Piyüri:** Ürotelyal epitelin etkene karşı oluşturduğu inflamatuvar yanıt sonucu idrarda lökosit bulunması durumudur <sup>14</sup>.

**Steril pyüri:** Piyüri saptanmasına rağmen kültürde üreme olmaması durumudur. Etken olarak akla anaeroblar (*Peptostreptococcus* spp., *Clostridium* spp., *Eubacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp.), *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycobacterium tuberculosis*, sistemik fungal etkenler ve *Leptospira* gelmelidir<sup>1</sup>.

**Bakteriüri:** İdrarda bakteri bulunması anlamına gelir. Anlamli bakteriüri; idrarda 10<sup>5</sup> CFU/ml bakteri olmasıdır<sup>11</sup>.

**Asemptomatik Bakteriüri:** Hastada ÜSE'ye ait hiçbir semptom ve bulgu yok iken idrarda anlamli bakteriüri saptanması asemptomatik bakteriüri olarak tanımlanır <sup>11</sup>. Bu durum pek çok hastada ve klinik senaryoda bildirilmiş olsa da gebeler, genitoüriner girişim yapılacak kadın hastalar ve erken dönem renal transplant alıcıları dışında tedavi gerektirmez<sup>10</sup>.

**Sistit:** Ağrılı, sık idrar yapma gibi bulgularla birlikte olan mesane enfeksiyonlarını tanımlamak için kullanılır.

**Pyelonefrit:** Ateş titreme, halsizlik gibi sistemik bulgular ile birlikte yan ve sırt ağrısı ile karakterli böbrek parankimi ve toplayıcı sistemin bakteriyel enfeksiyonlarını tanımlamak için kullanılır <sup>15</sup>.

**Tekrarlayan ÜSE:** Tekrarlayan ÜSE, en az 12 aylık dönemde üç veya daha fazla sayıda semptomatik ataklarla seyreden ÜSE' dir.

**Relaps:** Bir idrar yolu enfeksiyonu atağını takiben tedaviden iki hafta sonraki dönem içerisinde aynı bakteri suşlarınınca idrar yolu enfeksiyonu oluşmasıdır. Erkeklerde gelişen tekrarlayıcı enfeksiyonların çoğu relaplara bağlıdır. Relapslar genellikle altta yatan ürolojik bir anormalliğin olduğuna işaret eder.

**Reenfeksiyon:** Yeni bir enfeksiyonu ifade eder. Bir önceki enfeksiyonda idrarda bulunan etken üretilemez. Yeni bir bakteri türü veya aynı bakterinin farklı tipi ile enfeksiyon gelişmiştir. Kadınlarda görülen tekrarlayıcı enfeksiyonların çoğu reenfeksiyonlara bağlıdır<sup>16</sup>.

**Komplike olmayan ÜSE:** Akut sistit ve piyelonefrit; yapısal(anatomik) ve fonksiyonel olarak normal bir üriner sistemde görüldüğü takdirde 'komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonu varlığından bahsedilir.

**Komplike ÜSE:** Üriner sistemde idrarın olağan akışını yavaşlatacak anatomik-fonksiyonel bozukluklar; bakteriyel kolonizasyona eğilim yaratacak durumlar (kontrolsüz diyabet, geçirilmiş ürolojik cerrahi, kalıcı kateter uygulamaları ); yakın tedavi takibi gerektiren durumlar (transplante böbrek, böbrek yetmezliği, gebelik); antimikrobiyal direnç riskinin arttığı hastane kaynaklı enfeksiyon, sık antibiyotik kullanımı ve idrar yolu enfeksiyonu geçirme öyküsü veya tedavi başarısızlığını artıran immunsupresyon (hematolojik maligniteler, ilerlemiş hiv enfeksiyonu vs.) gibi durumların varlığında 'komplike üriner sistem enfeksiyonu' ndan söz edilir<sup>17</sup>.

### 2.1.2. Etken Mikroorganizmalar

Çoğunlukla etken olan mikroorganizmalar bakterilerdir. Enfeksiyonların büyük bir bölümü tek bir mikroorganizma ile gelişmektedir. Hastane enfeksiyonlarında birden fazla bakteri etken olabilmektedir.

Komplike olmayan sistit ve piyelonefrit olgularının %80'inden fazlasında sorumlu mikroorganizma *E.coli*'dir. Nonkomplike üriner sistem enfeksiyonları *E.coli*'nin çeşitli O serotipiyle (O1,2,4,6,8,16,18,75,150) oluşmakta ve bu suşlar üropatojenik *E.coli* (UPEC) veya ekstraintestinal patojenik *E.coli* (ExPEC) olarak isimlendirilmektedir. Bu serotipler hemolizin oluşturmaları ve üriner sistem epiteline bağlanmaları nedeniyle en sık

enfeksiyon oluşturan serotiplerdir. UPEC tip O4 serotipi diğer serotiplerden daha fazla virülans faktörlerine sahiptir<sup>18</sup>.

Ülkemizde de toplum kökenli ÜSE'de en sık izole edilen etken (%80-85) *E.coli*'dir. Bunu daha az sıklıkla *S.saphrophyticus*, *P.mirabilis*, *K.pneumoniae* (%10-15) izler<sup>19</sup>. *S. saphrophyticus*, özellikle bahar ve yaz aylarında, cinsel yönden aktif genç kadınlarda etken olur<sup>18</sup>.

Komplike infeksiyonlarda da en sık karşılaşılan etken *E.coli*'dir<sup>18</sup>. Özellikle yapısal anomalileri(obstrüktif üropati, konjenital anomaliler, nörojenik mesane v.b) olan hastalarda gelişen enfeksiyonlarda, tekrarlayan ÜSE'de ve hastane kökenli enfeksiyonlarda *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter* türleri, enterokok ve stafilokokların görülme sıklığı artar<sup>20</sup>.

Anaerob mikroorganizmalar nadiren ÜSE'ye neden olurlar. *Gardnerella vaginalis* ÜSE semptomları olan kadınlarda sıklıkla izole edilmesine rağmen patojenik rolü tam olarak anlaşılamamıştır. *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis* de piyelonefrit ve sisto-üretreite neden olan nadir etkenlerdir<sup>11</sup>. Ürogenital tüberkülozlarda idrardan mikobakteri kültürü yapıldığında vakaların %90'ında üreme olmaktadır. Atipik mikobakterilerin neden olduğu ÜSE nadir bildirilmiştir<sup>1</sup>.

Virüsler, immünokompetan bir konakçıda ÜSE'lerin nadir nedenidir. BK virüsü, adenovirüs ve sitomegalovirüs, kök hücre ve katı organ transplantasyonu sonrası hemorajik sistitte rol oynayan etkenlerdir<sup>21,22</sup>. Herpes simplex virüs tip 2 de üretrayı enfekte edebilir. Viral enfeksiyonların inkübasyon döneminde pek çok virüs idrarla atılmaktadır. Kabakulak virüsü, kızamık virüsü, CMV ve adenovirüs semptomlar ortaya çıktıktan sonra sıklıkla idrardan izole edilirler. Konjenital CMV ve konjenital rubella enfeksiyonlarında da idrarla virüs saçılımı aylar hatta yıllarca devam edebilir<sup>1</sup>.

Mantarlardan özellikle *Candida* türleri antibiyotik tedavisi alan kateterize hastalarda enfeksiyonlara yol açar. *Trichosporon suşları*, endemik

bölgelerden gelen kişilerde nadir olarak *Blastomyces* ve *Coccidioides* suşları da etken olarak düşünölmelidir<sup>1</sup>.

Parazitler nadiren ÜSE'ye neden olmaktadır. İdrar ve ürogenital örneklerin parazitolojik incelenmesi ile *Trichomonas vaginalis* trofozoitleri, *Strongyloides stercoralis* larvaları, *Schistosoma haematobium* yumurtaları, *Wuchereria bancrofti* ve *Onchocerca volvulus* mikrofilyaları saptanabilmektedir<sup>1</sup>.

### 2.1.3. Patogenez

Bakterilerin üriner sisteme girişı 3 yolla olur:

**Asendan Yol:** ÜSE'lerin patogenezindeki en önemli yoldur<sup>23</sup>. Kadınlarda ÜSE'lerin erkeklere oranla daha fazla görölmeginin nedeni, kadın üretrasının daha kısa olması ve perianal bölgeye komşuluğu nedeniyle periüretral alan ile vajina ağızında kolonize olan ÜSE'lere yol açacak mikroorganizmaların asendan yolla üriner sisteme çok rahat ulaşabilmesidir. Özellikle cinsel aktivite sırasında mikroorganizmalar üretradan mesaneye çok rahat geçebilmekte ve daha sonra burada çoğalarak üreter ve böbreklere ulaşabilmektedir. Erkeklerde hem üretra uzunluğunun daha fazla olması hem de prostat salgılarının anti-bakteriyel özellikleri nedeniyle asendan yolla enfeksiyon gelişim riski düşüktür<sup>24</sup>.

Vezikoüreteral reflü varlığında mikroorganizmaların renal pelvis ve parankime ulaşma riski artar ve bu durum piyelonefrite yatkınlık yaratır<sup>25</sup>. Kontrasepsiyon yöntemlerinden kondom kullanımının travmatik etkisi, kadınlardaki diyafram ve spermid jel kullanımının da bakteriyel kolonizasyonu artırması nedeniyle asendan enfeksiyonlara yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca post-menapozal dönemde östrojen eksikliğıne bağılı vagina florasının büyük çoğunluğunu oluşturan laktobasillerin yerini diğer mikroorganizmalara bırakması asendan enfeksiyonlar için risk oluşturur. Erkeklerde ise özellikle prezervatif sonda kullanımı en büyük asendan enfeksiyon kaynağıdır<sup>26</sup>.

**Hematojen Yol:** Bu yolla ÜSE gelişimi nadirdir. Özellikle, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp*, *Salmonella spp* ve *Mycobacterium tuberculosis* primer odaktan hematojen yolla üriner sisteme ulaşarak sekonder enfeksiyonlara neden olurlar<sup>24</sup>.

**Lenfatik Yol:** Hayvan deneylerinde üreter ve böbrek arasında anatomik düzeyde lenfatik bir ilişki olduğunun gösterilmiştir. Enfeksiyonun lenfatikler aracılığı ile üriner traktusa yayılabileceği düşünülmüştür. Ancak, piyelonefritlerin patogeneğinde böbrek lenfatiklerinin rolü kesin olarak ortaya konamamıştır<sup>11,18</sup>.

Mikroorganizma hangi yolla gelirse gelsin üriner sistemde enfeksiyon oluşturup oluşturmayacağı üç faktör tarafından belirlenir. Bunlar; inokulum miktarı, bakteri virulansı ve konakçı savunma mekanizmalarıdır.

Üriner sistem enfeksiyonlarında konak savunma mekanizmaları:

- İdrarın osmolaritesi, yüksek üresi, organik asit konsantrasyonları, düşük pH'ı,
- Miksiyonun mekanik temizleme etkisi,
- Erkeklerde prostat sekresyonunun antibakteriyel etkisi,
- Salgılanan mukopolisakkarit tabakanın ve Tamm-Horsfall proteininin bakteri yapışmasını engelleyici etkisi,
- Lokal antikor (IgA) salgılanması,
- Vajenin, periüretal bölgenin, deri ve distal üretranın bakteriyel florasıdır<sup>27</sup>.

#### 2.1.4. Laboratuvar Tanısı

Üriner sistem enfeksiyonu tanısı klinik ve laboratuvar bulgularının bir bütün olarak ele alınmasıyla konur. Ateş, üşüme, titreme gibi genel enfeksiyon belirtileri, suprapubik hassasiyet, böbrek bölgesinde ağrı ya da pollaküri, dizüri, sıkışma hissi gibi sistit semptom ve bulguları olan hastalarda laboratuvar testlerine başvurulur. Genel olarak sedimentasyon ve C-reaktif protein yükselmesi ve lökositöz akut piyelonefrit lehinedir. Ancak sistitte bu

değişiklikler görülmez. Tanıda en önemli laboratuvar yöntemi idrarın incelenmesidir <sup>28</sup>.

### **İdrar Örneğinin Alınması ve Laboratuvara Gönderilmesi**

Laboratuvara orta akım idrarı, suprapubik aspirat, kateterden alınmış idrar, torba idrarı (bebeklerde) ve sistoskopi, nefrostomi, ürostomi ile alınan örnekler gönderilebilir.

Orta Akım İdrar Toplama: Sabah ilk idrar örneği veya mesanede en az 4 saat beklemiş idrar örneği tercih edilmelidir. İdrar vermeyi çabuklaştırmak için sıvı alımı önerilmemelidir. Daha önceden sabunlu su ile ıslatılmış gazlı bez ile kadınlarda üretral ve vaginal bölge (önden arkaya doğru); sünnetsiz erkeklerde glans penis dikkatlice silinmelidir. Daha sonra su ile ıslatılmış gazlı bez ile durulanmalıdır. Sünnetli erkeklerde herhangi bir işlem gerekmez. Benzalkonium veya heksaklorofen kullanılmamalıdır. İdrarın ilk birkaç mililitrelik bölümü dışarı atıldıktan sonra orta akım idrar steril bir kaba alınmalıdır.

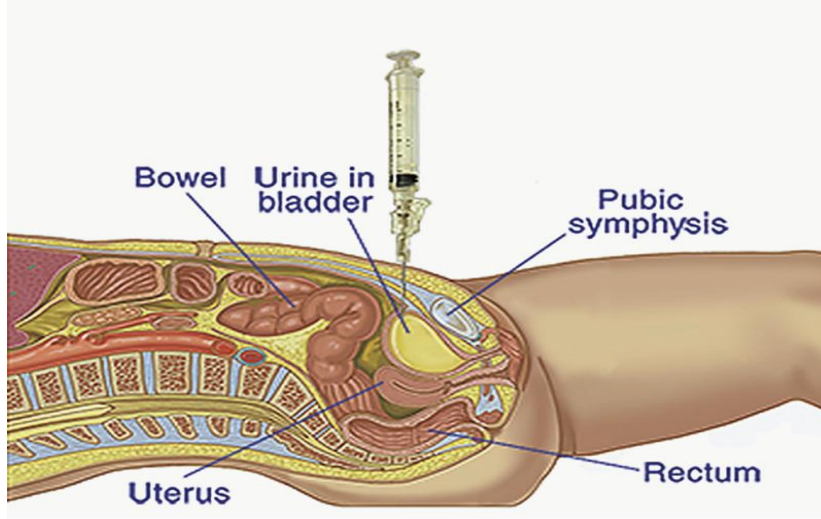
Kalıcı Kateterli Hastalardan İdrar Alma: Örnek kateterin üretraya yakın noktasından alınmalıdır. Kalıcı kateter takıldıktan sonra ilk 48-72 saat içinde idrar örneği alınması önerilmektedir. Kalıcı kateterlerde 48-72 saatten sonra kolonizasyon oluşabileceğinden yapılacak kültürde üreyecek mikroorganizmanın etken olma olasılığı azalmaktadır. Kateterin üretraya yakın bölümü %70 alkol ile temizlenmelidir. Kateter üretraya yakın yerinden, idrar boşaldıktan sonra klemplenmeli ve idrarın tekrar dolması beklenmelidir. Enjektör steril koşullarda ve ucu yukarı bakacak şekilde katetere batırılmalıdır. İdrar aspire edilip steril kaba konulmalıdır. Örnek asla idrar torbasından alınmamalıdır<sup>1</sup>.



**Şekil 1:** Kalıcı kataterden idrar örneği alınması<sup>29</sup>

Suprapubik Aspirasyon ile İdrar Alma: Bu yöntem orta akım yöntemi ile örnek alınamayan çocuklarda, spinal kord hasarı olan hastalarda, anaerobik üriner sistem enfeksiyonu tanısında ve tanıda karara varılamayan şüpheli durumlarda uygulanmalıdır. Bu yöntem ile idrarın üretral veya perineal bölgedeki bakteriler ile kontaminasyonu ve araştırılacak bakterilerin hava ile teması engellenir. Mesanenin dolu olduğu kontrol edilmelidir. Suprapubik bölgeye antisepsi uygulanmalıdır. Ponksiyon bölgesi orta hatta, göbek ile symphysis pubis arasında 1/3 alt kısımdır. Bu noktaya enjektör ile girilir. Tercihen ultrason eşliğinde yapılması önerilir. Mesaneden idrar aspire edilir. Alınan idrar örneği steril kaba aktarılır ve hızla laboratuvara gönderilir<sup>30</sup>.





**Şekil 2:** Suprapubik aspirasyonla idrar örneği alınması <sup>31</sup>

Sistoskopi ile İdrar Alma: Bu yöntem ÜSE yerinin belirlenmesinde kullanılır. Ameliyathane veya özel alanlarda yapılmalıdır<sup>1</sup>.

İdrar örneği alındıktan sonra idrar kabının etiketine hastanın demografik bilgileri, örnek alınma zamanı ve yöntemi yazılmalıdır. Örnekler hemen laboratuvara gönderilmelidir. Eğer idrar 2 saat içerisinde ulaştırılamayacaksa, saklama ve taşıma süresi dahil 24 saate kadar buzdolabında(+4 °C de) tutulabilir. Örnek dondurulmamalıdır. Eğer soğutma mümkün değilse ve taşınma sırasında gecikme olacaksa, örnekler dondurulmuş kurutulmuş borik asit-gliserol veya borik asit-sodyum format gibi koruyucuların olduğu tüplerde nakledilmelidir. Bu süre iki günü geçmemelidir.

### **Red Kriterleri**

- Örnek alındıktan sonra en fazla 2 saat içinde laboratuvara ulaşmamış idrar örnekleri (Buzdolabında +4°C'de 24 saate kadar tutulabilir veya borik asit gibi koruyucu madde içeren tüplere konulabilir),
- Günlük (24 saat) biriktirilmiş idrar örnekleri,
- Aynı yöntemle alınmış ilk örnekten sonraki 48 saat içinde tekrar gönderilen idrar örnekleri,
- Foley katater uçları,

- Sondalı hastanın torbasından alınan idrar örnekleri,
- Steril olmayan kaplarda gelen idrar örnekleri,
- Sızdıran kaplarda gelen idrar örnekleri,
- Suprapubik mesane aspirasyonu örnekleri dışında yapılmış anaerobik kültür istemleri

reddedilir. Bu örnekler üriner sistem enfeksiyonu tanısı için uygun örnekler değildir.

Yenidoğanlar, infantlar, küçük bebekler işeme idrarı veremezler. Bu yaş gruplarında sonda ile kateterizasyon idrar kültürü için tercih edilen yöntemdir. Fakat özellikle yenidoğanlarda sonda ile örnek alınması mümkün olmayabilir. Bu yaş gruplarında pediatrik torba ile örnek alınması tek yöntem olabilir. Torbalanmış örnekler kabul edilebilir olmasa da alınabilen tek örnek ise işleme alınmalıdır<sup>13</sup>.

### **Laboratuvarda Yapılan İşlemler**

**Pyüri Saptanması:** Santrifüj edilmemiş idrarda thoma lamında  $\geq 10$  lökosit/ml veya lam lamel arası incelemede 40x objektifte bir alanda  $\geq 3$  lökosit bulunması pyüriyi gösterir<sup>32</sup>. Pyüriyi saptamak amacıyla kullanılan hızlı bir tarama yöntemi de lökosit esteraz testidir. Duyarlılık ve özgüllüğü mikroskobiden daha düşüktür (%75- 96 ve %94- 98), bu yüzden lökosit esterazı negatif olan semptomatik hastalarda mutlaka idrar mikroskobisi bakılmalı veya idrar kültürü alınmalıdır<sup>33</sup>.

**Gram Boyama:** Santrifüj edilmemiş idrardan 10  $\mu$ L alınıp yapılan gram boyasında her immersiyon sahasında bir veya daha fazla sayıda lökosit ve bakteri olması, ÜSE için anlamlıdır. Bu  $10^5$  CFU/ml'lik bakteriüriyi ve pyüriyi gösterir<sup>34</sup>.

**Nitrit Testi:** *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakterilerin normalde idrarda var olan nitratları nitritlere dönüştürebilmesi esasına dayanır. Bunun için idrarın mesanede en az 4 saat beklemiş olması gereklidir. Bu nedenle

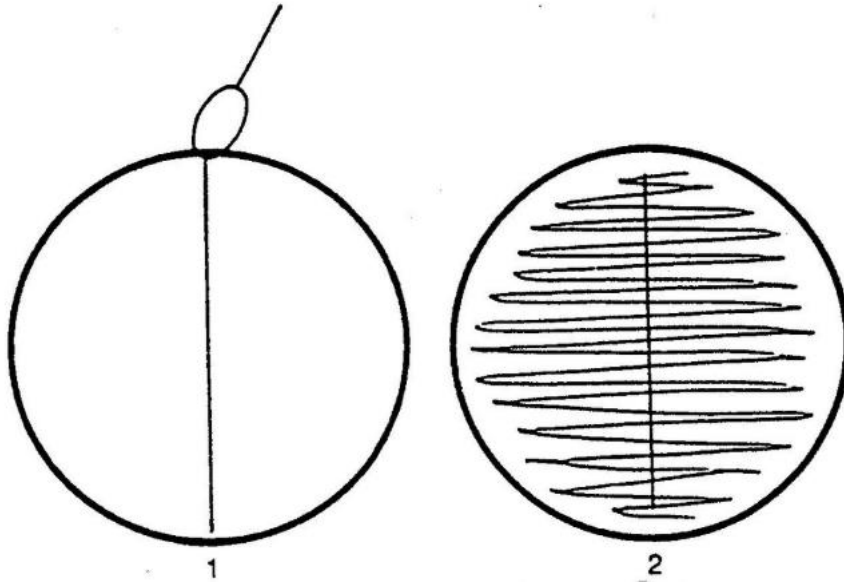
test için en uygun örnek sabah alınan ilk idrardır. Yalancı negatiflik oranı yüksektir <sup>19</sup>.

Mikobakteriler için inceleme: İdrar örnekleri santrifüj ile konsantre edildikten sonra dekontamine edilir, mikroskopisi ve kültür için ekimi yapılır <sup>35</sup>.

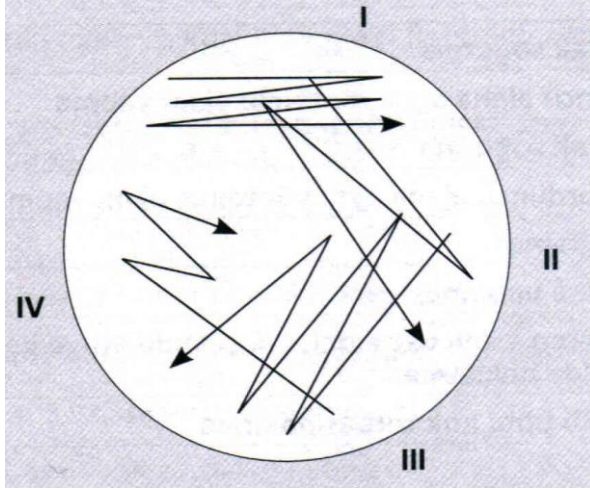
Parazitolojik inceleme: İdrar santrifüj edildikten sonra lam lamel arası preparat hazırlanıp 10x ve 40x objektiflerde incelenir (*Trichomonas vaginalis* ve *Schistosoma haematobium* tanısı için)<sup>36</sup>.

Viral etkenler için inceleme: Hücre kültüründe virüs izolasyonu ve moleküler testler viral etkenlerin tanısında kullanılan yöntemlerdir.

Kültür işlemleri: İdrar hafifçe çalkalandıktan sonra örneğin dip kısmından kalibre öze ile alınarak koyun kanlı agara (KKA) kantitatif yöntemle ekilir. MacConkey agar veya eozin-metilen-blue (EMB) agara kantitatif veya azaltma yöntemi ile ekim yapılır (Şekil 3 ve Şekil 4 ). İnvazif işlem ile alınan örnekler 0.01 ml kalibre özeler ile ekilmelidir. Diğer örnekler 0.001 ml veya 0.01ml kalibre özelerle ekilebilir.



**Şekil 3:** Kantitatif idrar kültürü ekimi<sup>37</sup>



**Şekil 4:** Azaltma yöntemiyle ekim<sup>38</sup>

Plaklar 16-24 saat (gerekirse 48 saat ) süreyle 35-37 °C'lik etüvde inkübe edilir ve değerlendirilir. Eğer üreme olmuş ise öncelikle koloni miktarı sayılmalıdır. Eğer 0,001 ml öze kullanıldı ise, bir koloni 1.000 cfu/ml'ye eşdeğerdir; 0,01 ml öze kullanıldı ise, bir koloni 100 cfu/ml'ye eşdeğerdir. Yeterli miktarlarda üreyen üropatojenler(Tablo 1), laboratuvar prosedürlerine göre tanımlanır ve antimikrobiyal duyarlılık testi (ADT) yapılır<sup>13</sup>. Pozitif bir idrar kültürü sonucu için; üreyen bakterilerin koloni sayısının  $10^5$  CFU/ml'nin altında olmaması gerekir. Aksi durum bulaşı gösterir. Öte yandan suprapubik aspirasyon ile alınan idrar örneklerinde her koloni anlamlı kabul edilir<sup>11</sup>. Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Derneği semptomatik hastalarda sistit tanısı için  $10^3$  CFU/ml, piyelonefrit tanısı için de  $10^4$  CFU/ml sınırını önermektedir<sup>39</sup>.

**Tablo 1:** İdrarda üreyen mikroorganizmaların değerlendirilmesi. ( \* Konağın florasına ait olup kültür plağında üreyen tüm mikroroganizmalardan 10 kat daha fazla üreme olması durumunda)

İdrar Patojenleri	İdrar Patojeni Olmayanlar (normal deri/ürogenital flora)
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Bacillus</i> türleri
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Difteroidler ( <i>C. urealyticum</i> hariç)
Diğer gram negatif basiller	<i>Lactobacillus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Viridans streptokoklar ( <i>A. urinae</i> hariç)
<i>Enterococcus</i> türleri	
Beta-hemolitik streptokok	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> - (kadın 12 - 60 yaş arası)	
Diğer koagülaz negatif stafilokoklar*	
<i>Gardnerella vaginalis</i> *	
<i>Aerococcus urinae</i> *	
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	
Mantarlar	

### 2.1.5. Yoğun Bakım Hastalarında Üriner Sistem Enfeksiyonları

Yoğun bakım üniteleri hastane geneline göre invaziv girişimlerin daha sık uygulandığı dirençli mikroorganizmaların daha çok izlendiği yerlerdir ve bu nedenle buralarda hastane enfeksiyonları daha sıktır<sup>2</sup>. Yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyonlar ciddi morbidite, mortalite ve maliyet artışına neden olur. Enfeksiyonlar ve sepsis, yoğun bakım ünitelerinde kardiyak dışı ölüm nedenidir ve yoğun bakım harcamalarının %40'ını oluşturmaktadır. Dirençli bir patojen ile enfeksiyon, hastanın yoğun bakım ünitesinde yatış süresinin uzamasına neden olmaktadır<sup>40</sup>. Hastane genelinde nozokomiyal enfeksiyon oranları % 5-10 iken yoğun bakım ünitelerinde bu oran % 20- 25'lerin üzerine çıkabilmektedir. Üriner sistem enfeksiyonları nozokomial enfeksiyonlar içerisinde sıklık açısından birinci sırada yer alır. Nozokomial enfeksiyonların %40- 60'ından sorumludur. Yoğun bakım ünitelerinde pnömonilerle beraber en sık görülen iki enfeksiyondan biridir. Hastaların yaklaşık %80'inde üretral kateter kullanımı geri kalanlarda sistoskopi ve diğer ürolojik girişimler sorumlu tutulmuştur.

Yoğun bakım hastalarında üriner sistem enfeksiyonuna yol açan risk faktörleri;

- Kateterizasyon süresi,
- Drenaj torbasının kolonizasyonu,
- Antibiyotik kullanımı,
- Diabetes Mellitus (DM) ve altta yatan diğer hastalıklar,
- Kadın cinsiyette olma,
- Cerrahi girişim veya idrar ölçümü dışı nedenlerle kateter konulması,
- Kreatinin yüksekliği,
- Kateter bakımında aksama olarak sıralanabilir <sup>2</sup>.

Üriner kateter takılan hastaların %20-40'ında yedinci günden sonra bakteriüri ya da kandidüri gelişmekte, sonraki her gün risk %5 artmaktadır. Uzun süreli kateterizasyon sonrası tüm hastalarda bakteriüri beklenmektedir. Katetere bağlı bakteriürilerde bakterilerin önemli bir kısmı hastanın kendi kolon florasına ait bakterilerdir. Bunlar, hastanın hastaneye yattıktan sonra hastane ortamından kazandığı ve bağırsaklarında kolonize olan bakteriler de olabilir<sup>41</sup>. Hastanede gelişen gram-negatif bakteriyeminin en sık nedeni üriner kateterizasyondur. Kısa süreli kateterizasyonda gelişen enfeksiyonlar sıklıkla tek bir patojen tarafından oluşturulur. Uzun süreli olanlarda ise polimikrobiyal etiyoloji sıktır. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* kısa süreli kateterizasyonlarda; *Escherichia coli*, *Providencia stuartii*, *P. mirabilis*, *Morgenella morgani* ise uzun süreli kateterizasyonlarda rastlanan etkenlerdir <sup>2</sup>. Bu etkenler dışında *Enterokok spp.*, *Stafilokok spp.* ve mantarlar da önemli diğer etkenlerdir.

Amerika Birleşik Devletleri *National Healthcare Safety Network* (NHSN) verilerine göre, 2009 ve 2010 yılları arasında akut bakım hastaneleri ve uzun süreli akut bakım ünitelerinde yaklaşık 20000 kateter ilişkili ÜSE tespit edilmiş ve en yaygın patojenler şu şekilde bildirilmiştir<sup>40</sup>:

- *E.coli* – % 27
- *Enterococcus spp* - %15
- *Candida spp* - %13

- *P.aeruginosa* - %11
- *Klebsiella spp* - %11

Kateter ilişkili üriner infeksiyon sıklıkla asemptomatiktir. Üriner kateterin varlığında saptanan asemptomatik bakteriüride immünyanıt baskılanması, üriner sisteme cerrahi girişim uygulanması durumları dışında antibiyotik tedavisi uygulanmamalıdır<sup>42</sup>. Kandidüri de kateteri bulunan hastalarda, özellikle de antimikrobiyal tedavi alanlarda veya diyabetik hastalarda sık görülen bir bulgudur. Bununla birlikte, çoğu hasta asemptomatik olduğu için kandidüri genellikle kolonizasyon olarak kabul edilir ve kandidemiye ilerleme nadirdir<sup>43</sup>.

## **2.2. *Escherichia coli***

*E. coli*, 1885 yılında Thedor Escherich tarafından ishalleri süt çocuklarının dışkılarından izole edilmiş ve 1919'da Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia* cins ismi önerilene kadar *Bacterium coli commune* ismi ile tanınmıştır<sup>44</sup>. *E.coli*; *Eubacteria* alemi, *Proteobacteria* şubesi, *Gamma Proteobacteria* sınıfı, *Enterobacteriales* takımı ve *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alır. *Escherichia* cinsinde, en sık rastlanan ve klinik olarak da en önemli olan *E. coli* 'dir. Bununla birlikte *E. adecarboxylata*, *E. hermanni*, *E. vulneris*, *E. fergussoni* türleri de yer alır<sup>35</sup>. Doğumu takiben kısa bir süre içerisinde gastrointestinal sisteme yerleşen *E. coli* kökenlerinin büyük bir kısmı ince bağırsağın distal bölgesinde bulunur. *E. coli* aynı zamanda kalın barsak florası içinde de en yaygın olarak bulunan fakültatif anaerob bakteridir<sup>45</sup>.

### **2.2.1. Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri**

*E. coli*, 2-6 µm boyunda, 1-1,5 µm çapında, Gram negatif, sporsuz, çomak şeklinde, fakültatif anaerob bir bakteridir<sup>46</sup>. Bazı kültürlerde koka benzeyen küçük ve kısa zincirler oluştururken bazı kültürlerde de normalden uzun ve hatta Y harfi şeklinde dallanan flamanlı şekiller de bulunabilir<sup>47</sup>. Peritriş kirpikleri ile hareketlidirler. Hareketsiz suşları da vardır<sup>45</sup>. Seyrek olarak kapsül oluşturmakla beraber, pek çok izolat polisakkarit yapıda M

antijeni içeren bir mikrokapsül veya yine aynı yapıda K antijeni içeren slime tabaka içerebilir <sup>19</sup>.

Katı besiyerinde 18-24 saatte düzgün kenarlı, 2-3 mm çapında, konveks, çoğunlukla metalik yeşil röfle veren S tipi koloniler oluşturan *E. coli*, sıvı besiyerinde yoğun üreyerek bulanıklık yapar. Katı besiyerinde tekrarlayan pasajlarında granüler R tipi koloniler oluşturabilir<sup>48</sup>. *E. coli* fakültatif anaerop bir bakteri olup peptonlu su, buyyon ve jelöz gibi genel besiyerlerinde rahatlıkla ürer. Optimal üreme ısısı 37°C ve optimal pH 7-7,2 olmakla beraber 18- 45°C ve pH 5-8 aralıklarında da üreyebilir. Optimal şartların var olduğu durumlarda 20 dakikada ikiye bölünebilir. Eozin-Metilen Blue (EMB) agar ve McConkey agar gibi seçici besiyerlerinde bariz bir şekilde ürer. EMB besiyerinde laktozu fermente ettiklerinden metalik refle veren koloniler oluşturlar. SalmonellaShigella (SS) agar ve McConkey agarda laktoz fermentasyonu sonucu kırmızı renkte ve etraflarında zon oluşan (safra yı prespite ettiğinden dolayı) koloniler yaparlar(Şekil 5). Cysteine Lactose Electrolyte Deficient (CLED) agar ve Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar besiyerlerinde sarı koloniler meydana getirirler. Bazı *E. coli* izolatları kanlı agarda hemoliz yapabilir <sup>49</sup>.



**Şekil 5:** MacConkey agarda *E.coli*<sup>50</sup>



*E.coli*'ler laktoz, glukoz, maltoz, mannitol, ksiloz, ramnoz, arabinoz sorbitol, trehaloz ve gliserolu asit ve gaz yaparak parçalar. Sukroz, salisin dulsitol ve rafinoz üzerine etkileri değişkendir. Adonitol, inozitol ve sellobiozu nadiren fermente ederler ve nişastadan asla gaz oluşturmazlar. Laktoza olan pozitif etkileri özellikle *Salmonella* ve *Shigella* gibi bu şekere etki etmeyen diğer bağırsak bakterilerinden ayırt edilmelerini sağlar. Bu yüzden pratikte *E.coli*'nin dışkıda birlikte bulunduğu laktoza etki etmeyen bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır<sup>47</sup>. Katalaz, metil kırmızısı, lizin dekarboksilaz reaksiyonları olumlu iken, oksidaz, fenilalanin deaminaz, lipaz, 25°C'de DNaz aktiviteleri olumsuzdur. Çoğunlukla indol pozitif, üreaz negatiftirler. Genellikle bazı suşları dışında H<sub>2</sub>S yapmasalar da, sisteinli besiyerlerinde az miktarlarda H<sub>2</sub>S yaptıkları tespit edilmiştir. Hemen hemen tümünde potasyum siyanid testi (KCN) testi negatiftir. Tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanmazlar ve jelatini hidrolize etmezler<sup>35</sup>.

*E. coli*'nin hareketsiz, laktozu fermente etmeyen, glukozdan gaz oluşturmayan suşları inaktif suşlar olarak kabul edilir ve bu suşlar birçok özellikleri ile *Shigella* cinsine daha yakın bulunurlar<sup>19</sup>.

Özellikle bağırsak bakterilerini IMViC (indol, metil kırmızısı, Voges Proskauer, sitrat) testleriyle ayırt etmek mümkündür. *E.coli* için IMViC testleri (+ + - -)'dir. *E.coli*'ler triptofandan indol yaparlar, Metil kırmızısı testi pozitif, Voges Proskauer testi negatiftir ve Simon'un sitratlı besiyerinde genellikle üreyemezler<sup>51</sup>.



Şekil 6 : *E. coli* IMViC testleri <sup>52</sup>

Tablo 2 : *E. coli* ve diğer enterik basillerin IMViC testleri<sup>53</sup>

	I	M	Vi	C
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	+	+	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	+
<i>Enterobacter spp.</i>	-	-	+	+
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	+	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	-	+
<i>Citrobacter koseri</i>	+	+	-	+

Dr. T.V.Rao MD

### 2.2.2. Antijenik Yapısı

Karmaşık bir antijenik yapıya sahip olan *E. coli*'de O, H, K ve fimbria antijenleri bulunur. 1944 yılında Kauffman tarafından antijenik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritlerdeki O-spesifik polisakkarit zincirine göre serolojik

guruplara, H ve K antijenlerine göre serolojik tiplere (serovarlara) ayrılırlar. Şimdiye kadar 170'i aşkın O antijeni, 50'yi aşkın H antijeni ve 100'den fazla K antijeni tanımlanmıştır. Toplamda ise 1000'in üzerinde antijenik tipi mevcuttur<sup>54</sup>.

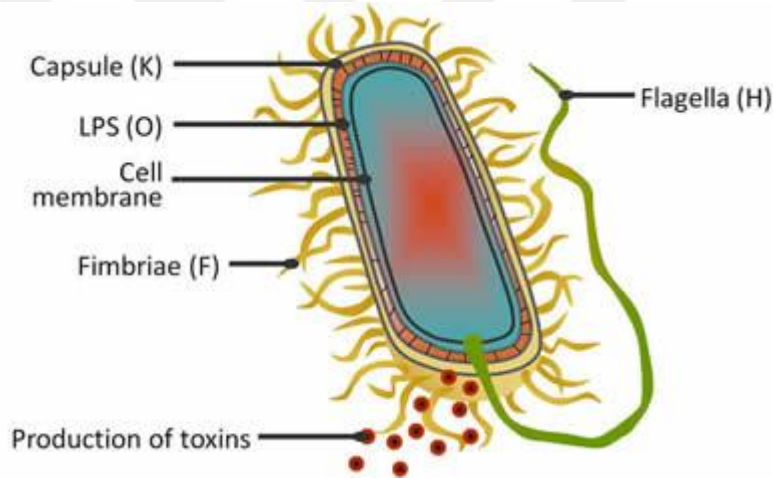
O antijeni: Somatik bir antijen olup ısı ve alkole dayanıklı, formole karşı hassastır. *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Citrobacter* ve *Providencia* cinsi bakterilerin O antijenleri ile *E. coli* antijenleri arasında çapraz reaksiyonlar meydana gelebilir. *E. coli*'nin yol açtığı üriner sistem infeksiyonlarının üçte ikisine bilinmekte olan bütün *E. coli* serotiplerinin sadece %8-10'luk kısmı sebep olur. Şimdiye kadar 171 *E. coli* O antijeni bulunmuş olsa da bunlardan en çok rastlanılanı 25 kadardır. Üriner sistem enfeksiyonlarına en sık yol açan serotip 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 18a, 18b, 22, 25, 50 ve 75'tir<sup>55</sup>.

H antijeni: Kirpik antijeni olup protein yapısındadır. Hareketli suşlarda bulunur. Formole dayanıklı olmasına rağmen 100°C'ye kadar ısıtılmaya, proteolitik enzimlere ve alkole karşı hassastır. Şimdiye kadar 56 adet ayrı H antijeni bulunmasına rağmen identifikasyonda ancak 20 kadarı kullanılmaktadır. Ne birbirleriyle ne de başka bakterilerin H antijenleri ile çapraz reaksiyon oluşturmazlar<sup>56</sup>.

K antijeni: Polisakkarit yapıda olan K antijeni kapsül antijenidir<sup>48</sup>. K antijenleri ısıya dayanıklıdır. 100 ve bazen 120 derecede bir iki saat kaynatmakla ortadan kaldırılabilirler. Kapsül antijenlerini bulduran *E. coli* bakterileri O antiserumları ile aglütine olmazlar. K antijenleri aglütinasyon özellikleri ve yapılarının farklılığına göre K1, K2, ... şeklinde adlandırılmış olup yaklaşık 80 çeşidi saptanmıştır<sup>57</sup>. Bu gurubun antijenleri L, A, B harfleri ile gösterilir. K 1, 2, 3, 5, 12 ve 13 antijenlerini içeren suşlar büyük oranda piyelonefrit etkenidir. K1 en sık saptanan antijen olup, *E. coli*'lerin %80'inde bulunmaktadır. Bakteri hücre yüzeyinde hidrofilik ve negatif yüklü özellik oluşturarak opsonizasyon ve fagositoza engel olur. Ayrıca alternatif kompleman yolunu inhibe ederek kompleman sisteminin bakterisidal etkisini ortadan kaldırır<sup>58</sup>.

K antijenleri L, A, B antijenlerinden oluşan bir gruptur. L antijenine sahip *E.coli* suşları genellikle hemolitik ve kolonileri daha opaktır. Bu antijen fındık fareleri için toksik, tavşanlar için nekrotik etki gösterir. Yaklaşık olarak 27 tane L antijeni tanımlanmıştır. A antijenine sahip olan suşların kolonileri opak, mukoid ve M koloni özelliğindedir. Yaklaşık olarak 26 tane A antijeni tanımlanmıştır. 100°C'ye 1 saat dayanabilen B antijeni patojeniteden sorumlu başlıca kapsül antijenidir<sup>48</sup>. B antijeni L antijenlerine benzer olup sadece gastroenterit yapan suşlarda bulunur. Bu antijenin çocuklardaki epidemik diyarelerde etken olan *E.coli* suşlarında buldukları gösterilmiştir<sup>57,59</sup>.

Fimbria Antijeni: Bakterilerde O aglütinasyonunu engelleyebilen 37°C'de oluşturulan, eritrosit ve çeşitli hücrelere bakterinin aderensini sağlayan protein yapıda antijenlerdir<sup>51</sup>. F1, F2, F3... şeklinde adlandırılırlar.



**Şekil 7:** *Escherichia coli* antijenik yapısı <sup>60</sup>

### 2.2.3. Virulans Faktörleri ve Patogenezi

Virulans, mikroorganizmanın hastalık oluşturma yeteneğidir. Konağa giriş ve birincil savunma mekanizmalarından kaçış, konak hücrelerine adezyon, çoğalma ve yayılma, konak hücrelere toksinlerle ya da enflamatuvar cevapla zarar verme, ikincil savunma mekanizmalarından kaçış patogenezin basamaklarını oluşturur. Yapısal ve işlevsel bir bozukluk olmayan ve bağışıklık sisteminde bir sorun bulunmayan konakta, bakteri

miktarı ve virulans faktörleri infeksiyon gelişebilmesi için önem kazanır<sup>61</sup>. Normal kolon florasında bulunan *E. coli* patojen bir bakteri değildir. Patojen ve patojen olmayan suşlar arasındaki esas farklılık virulans faktörleridir. Patojen *E. coli* suşları, bazı spesifik virulans özelliklerine sahiptir<sup>62</sup>. *E.coli*'nin çeşitli konaklarda değişik dokuları infekte edebilmek için hücre yapısı ile ilgili veya hücre dışına salgılanan toksinler, enzimler gibi çok sayıda değişik virulans faktörleri vardır<sup>63-66</sup>. Üriner sistemde bakterinin enfeksiyon oluşturabilmesi için öncelikle üroepitelyal hücrelere özgül olarak bağlanabilmesi gerekmektedir<sup>61</sup>.

**Fimbrial adezinler:** *E. coli*'lerde adezyondan sorumlu en önemli bakteri yüzey adezinleri fimbriyalardır<sup>47</sup>. Fimbria jejunum, ileum ve üriner sistem epiteline tutunmayı, invazyonu ve biyofilm oluşumunu sağlar<sup>67,68</sup>. Fimbrial yapılar infeksiyon oluşturmada diğer virulans faktörlerinden daha önemlidir<sup>69</sup>. Her bir *E. coli*, ucunda adezin bulunan 100-200 fimbria taşıyabilir. Elektron mikroskopisi ve eritrosit aglütinasyonu yöntemleri kullanılarak farklı morfolojik ve fonksiyonel özelliklere sahip birçok fimbria tipi tanımlanmıştır. Üzerinde en çok çalışılan üropatojen olan *E.coli*'nin fimbria'ları adezin proteinlerinin reseptör özgüllüklerine göre sınıflandırılmaktadır<sup>61</sup>. Konak hücrelerine tutunmaya yarayan aynı zamanda pili de denilen fimbrialar antijenik ve fonksiyonel özellik gösterirler. Mannoza karşı olan duyarlılığına göre Tip 1 ve Tip 2 diye ikiye ayrılır<sup>45,54</sup>.

**Tip 1 fimbria:** Tip 1 fimbria *E.coli* suşlarının kolon mukozasına, ağız boşluğuna ve vajina mukozasına tutunmasına yardımcı olur. Birçok *E.coli* suşunda tip 1 fimbria ya da tip 1 fimbriayı eksprese etme kapasitesi vardır<sup>61,70,71</sup>. UPEC'lerin %90'dan fazlasında bulunan tip 1 fimbriaya mannoz-sensitive fimbria da denilmektedir<sup>72-74</sup>. D-mannoz içeren glikoproteinlerin oligosakkarid kısımlarının bu fimbria için reseptör olduğu düşünülmektedir<sup>75</sup>. Tip1 fimbriaların reseptörleri çeşitli canlıların eritrositlerinin yüzeyinde bulunan mannoz içeren glikoproteinlere bağlanma eğilimi gösterirler. Tip1 fimbria *E.coli*'nin insan üreteral mukoza epitelyum hücrelerine, idrarda normalde bulunan Tamm-Horsefall proteini ve üromukoide tutunmasını da

sağlamaktadır. Katetere bakteriyel adezyonda da tip 1 fimbria adezyonunun esas rolü oynadığı düşünülmektedir<sup>61,74,76,77</sup>. Bu bağlanma alfa-metil D mannozid veya D-mannoz solüsyonu ile bozular<sup>47,62</sup>. Üriner sistemde yaygın olduğu gibi diğer birçok doku sisteminde de D-mannoz reseptörleri bulunmaktadır. Bu nedenle tip 1 fimbria yapan *E.coli* suşları üromukoide kuvvetle adere olmaktadır<sup>61</sup>.

**Tip 2 fimbrialar:** *E.coli* suşlarının adheranslarının mannoz tarafından önlenmeyen fimbrialar da içerdikleri gösterilmiş ve bunlara mannoz rezistans fimbrialar (MRHA) denilmiştir<sup>62</sup>. Tip 1'den daha karmaşık olup değişik yapıda kolonizasyon faktörleri ve adezinleri barındırır<sup>62</sup>. Bunlar S fimbria, P fimbria, X faktör (Dr hemaglutinin) ve çeşitli kolonizasyon faktörleridir ve bu yapılar diğer virulans faktörleri ile yakın ilişki içindedirler<sup>78</sup>.

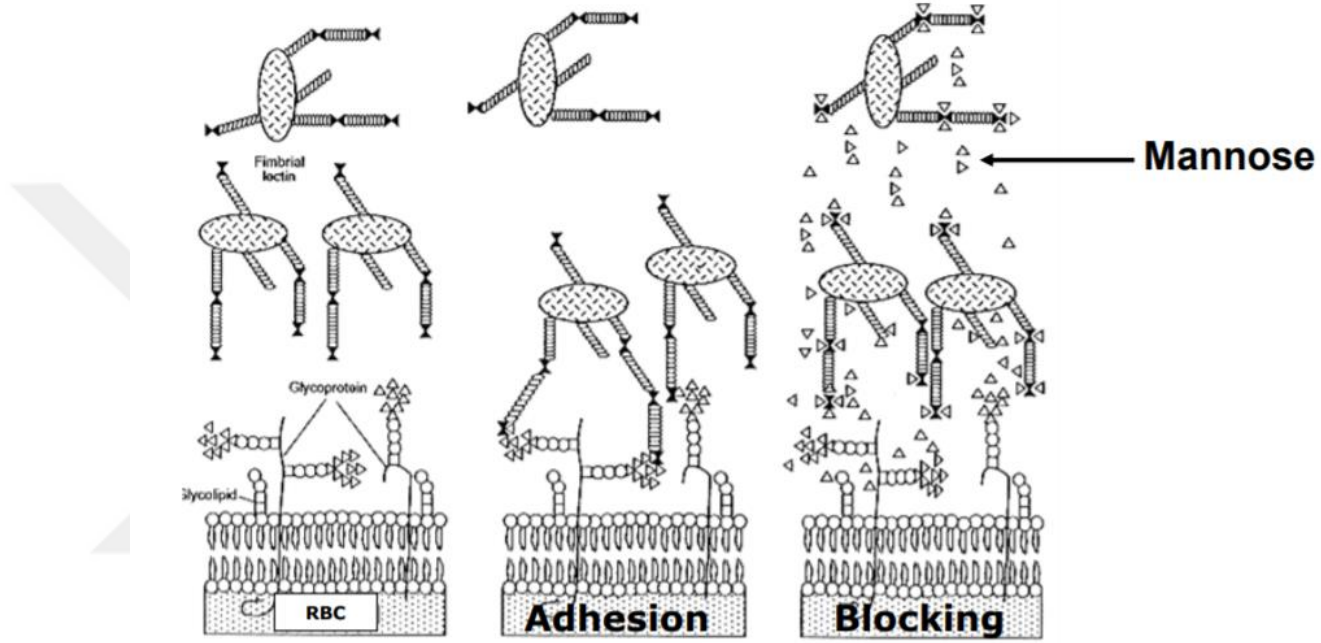
P fimbria, MRHA yapan fimbrialardan en önemlisidir<sup>69</sup>. İlk olarak insanların alt üriner sistem infeksiyonu etkeni olan *E.coli*'lerden izole edilmiştir<sup>79</sup>. P kan grubu antijenlerine bağlanabildiğinden bu adı almıştır<sup>62,66,80</sup>. UPEC suşlarında bulunup üriner enfeksiyonlarda rolü vardır<sup>71</sup>. Özellikle *E.coli*'den kaynaklanan pyelonefritde P fimbrianın önemli rolü olduğu görülmektedir<sup>3,66,81</sup>.

S fimbria, beyin ventriküllerine, koroid pleksusa ve damar epitelinde bulunan reseptörlere tutunmayı sağlayan, bakteriyemi yapan *E.coli* suşlarında bulunan fimbriadır<sup>80,82</sup>.

X faktör, P kan grubu antijenleri ve mannoz içeren bölgeler dışındaki alanlara tutunan ve *E.coli*'nin üropatojenitesinde önemli olan heterolog adezinlerdir<sup>62</sup>. Dr kan grubu antijenlerine tutunmayı sağladıkları için artık Dr hemaglutinin olarak adlandırılmaktadırlar<sup>82</sup>.

**Hemaglütinasyon:** Fimbriya bulunan *E.coli* suşları, fimbriya benzeri yüzey reseptörleri bulunduran eritrositler ile hemaglütinasyon oluştururlar. Hemaglütinasyonun mannoz varlığında devam edip etmemesine göre adezinlerin oluşturduğu iki tip hemaglütinasyon vardır. Mannoza duyarlı hemaglütinasyon (MSHA), Tip1 fimbria varlığında oluşmaktadır. Tip1

fimbrialar mannoz içeren reseptörlerle reaksiyona girdiği için eritrosit süspansiyonuna mannoz eklendiğinde hemagglütinasyon inhibe olur (Şekil 8). MRHA da ise Tip2 fimbrialar özellikle de P fimbria etkindir. Bu fimbriyalar ise mannoz içermeyen reseptörlerle etkileşir ve ortamda mannoz varlığında hemagglütinasyon devam eder<sup>67,68,83</sup>.

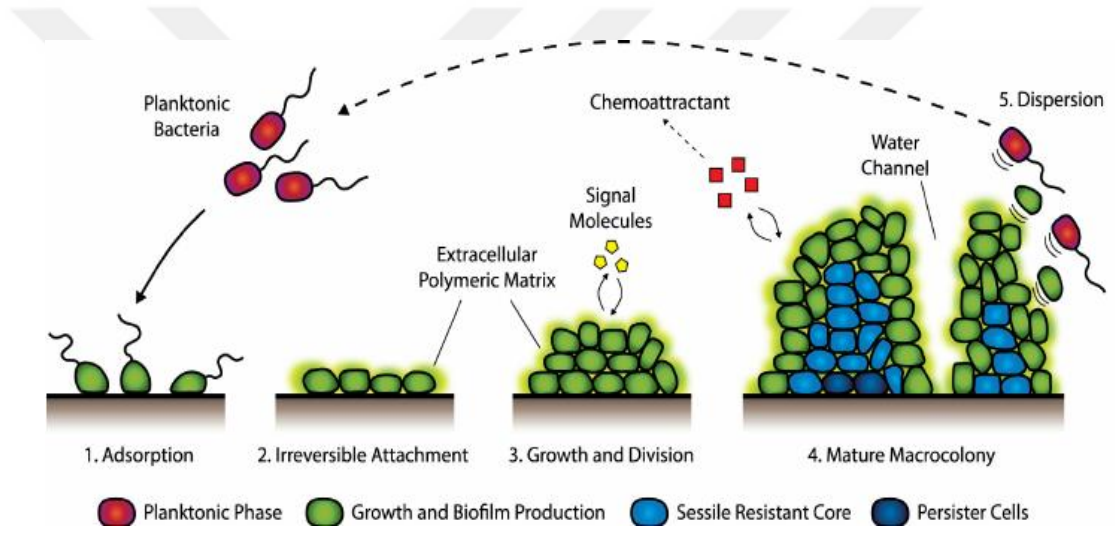


Şekil 8: Mannoz duyarlı hemagglütinasyon (Tip1 fimbria)<sup>84</sup>

**Afimbrial adezinler (afa):** İlk defa 1984 yılında afa gen demeti piyelonefritojenik *E.coli* suşlarının genomik DNA'sı üzerinde lokalize *afaA*, *afaB*, *afaC*, *afaD*, *afaE* isimli genlerden *afaB*, *afaC* ve *afaE* nin kodladığı adezinler olup mannoz rezistans hemagglütinasyon yapma ve üroepitelyal hücrelere yapışma özelliği göstermektedir. Ayrıca enteropatojenik *E.coli* (EPEC) suşlarında ve UPEC suşlarında AIDA-I, CS6, M, NFA, CS31A gibi başka afimbrial adezinler de vardır<sup>62</sup>.

**Biyofilm Tabakası:** Biyofilm; etrafı kendi oluşturduğu polimerik bir matriksle çevrili olarak canlı ya da cansız bir yüzeye tutunan bakteri topluluğu

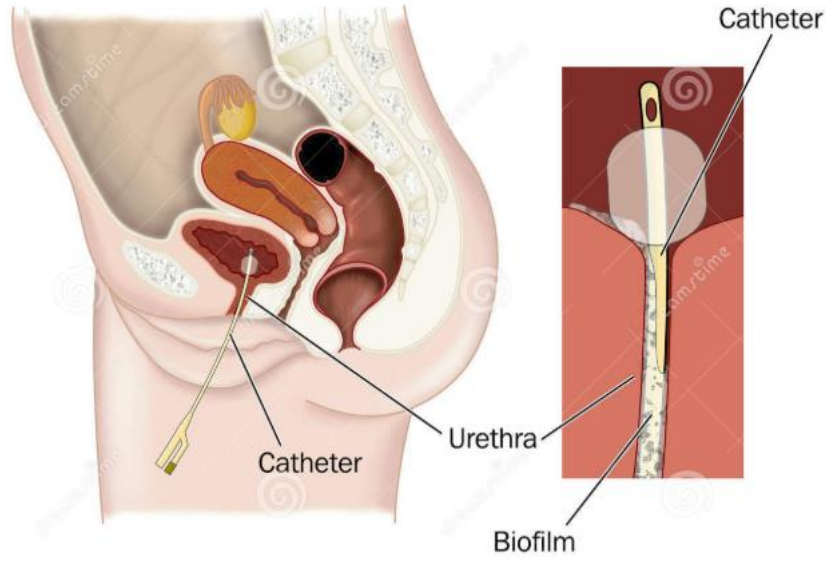
olarak tanımlanmaktadır<sup>85</sup>. Adherens, antibiyotik direnci ve fagositoza karşı dirençte önemli rolü vardır ve son yıllarda tıbbi önemini daha da arttırmıştır<sup>86</sup>. Polisakkarit, protein, DNA ve sudan oluşan ekstraselüler matrix biyofilm hücrelerinin tutunmasını sağlar. Yüzeye sıkıca tutunan bakteri burada çoğalarak önce mikrokolonileri, mikrokoloniler de büyüyerek ve genişleyerek biyofilm tabakasını oluşturur<sup>87</sup>(Şekil 9). Özellikle invaziv aletlerin yüzeyine tutunarak biyofilm tabakası oluşturan dirençli patojen mikroorganizmalar, konak savunma mekanizmalarına karşı da direnç geliştirerek, infeksiyon oluştururlar<sup>88</sup>.



Şekil 9: Biofilm oluşumu<sup>89</sup>

Üriner kataterlerin hem iç, hem de dış yüzeylerinde biyofilm oluşabilir (Şekil 10). Kateter ne kadar uzun süre kalırsa biyofilm oluşumu da o derece kaçınılmazdır. Kateterin ilk 7 gününde biyofilm oluşma olasılığı %10-50 iken, ileriki günlerde bu oran artmaktadır<sup>90</sup>.





**Şekil 10:** Katater duvarı ve üretral duvarda biyofilm oluşumu <sup>91</sup>

Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar antibiyotiklere planktonik formlarından daha dirençlidirler. Planktonik formlara göre saptanan antibiyotik duyarlılıkları ile biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinin zorlaştığı bilinmektedir <sup>92</sup>.

**Hemoliziner:** Kromozomal genlerin ürünleri olan veya plazmidler tarafından kodlanan hemoliziner, eritrosit, nötrofil ve monosit gibi birçok hücreye toksik etkili proteinlerdir<sup>61,62</sup>. *E. coli* birçok farklı tip hemolizin üretebilmektedir. Bunların başlıcaları  $\alpha$ -hemolizin (hücre dışı),  $\beta$ -hemolizin (hücre bağlı),  $\gamma$ -hemolizin ve enterohemolizindir. *E. coli* suşlarında  $\alpha$ -hemolizin üretiminin üriner sistem enfeksiyonlarıyla ilişkili olduğu birçok epidemiyolojik çalışmayla gösterilmiştir. Bu protein yüksek sitotoksik aktivite sahibi olmasının yanısıra fagositozu da etkileyebilmektedir <sup>93</sup>.

**Ekzotoksinler:** Enterotoksijenik *E. coli* suşları, yapımı plazmidle kodlanan sıcaklığa duyarlı (LT1 ve LT2) ve sıcaklığa dirençli (St<sub>a</sub> ve ST<sub>b</sub>) toksinler salgılar<sup>35</sup>. İnce barsağın iç kısmında uygun reseptörlere bağlanan LT adenil siklazı, ST'de guanozil siklazı aktive ederek barsaklardan klora bağlı sodyum emilimini engellerken klor salınımını da uyarır. Glikoza bağlı sodyum emilimi ise normal kalır. Barsak duvarlarında bir değişiklik olmadan

bol sulu, kan ve mukus içermeyen ishale neden olur. Enterotoksijenik *E. coli* suşlarının oluşturduğu ishaller daha çok gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda ve turist ishali olarak yetişkinlerde ortaya çıkar.

*E. coli* suşları, *Shigella*'nın salgıladığı Shigatoksin benzeri olan ve Shigalike toksin de denilen verotoksinler (Stx-1, Stx-2) salgılar<sup>35,45</sup>. Bu toksinler kalın barsak hücrelerine bağlanarak mikrovillusları harap ederek bol miktarda kanlı diyare (hemorajik kolit) ve akut böbrek yetmezliğine (hemolitik üremik sendrom) neden olur. Verotoksin oluşturan en önemli *E. coli* serotipi O157:H7'dir<sup>94</sup>.

**Kolisin:** Birçok Gram negatif bakteri, başka bakteriler üzerinde bakterisidal aktivite gösteren ancak salgılandığı mikroorganizmaya zarar vermeyen bakteriosinler salgılar. Üretilmeleri plazmid kontrolündedir. *E. coli*'nin salgıladığı bakteriosin kolisindir<sup>54</sup>.

**Serum direnci:** Birçok Gram negatif bakteri, taze insan serumuyla canlılığını yitirir. Bakteriler komplemanın öldürücü etkisinden, kompleman aktivasyonunu bloke ederek ya da hedef bölgelere bağlanmasını engelleyerek kaçır. Serum direnci suşun lipopolisakkarit yan zincirindeki karbonhidrat uzunluğuyla ilgilidir. Özellikle K1 antijenine sahip *E. coli* suşlarında serum direnci artar<sup>95-97</sup>.

**Kapsül:** K antijeni kapsül antijeni olup, polisakkarid yapısındadır ve sıcaklığa duyarlıdır. K1, 2 3, 5, 12 ve 13 antijenleri içeren *E. coli* suşları yüksek oranda piyelonefrit etkenidir. UPEC suşlarında en sık rastlanan K1 antijeni olup, bu antijen hem fagositoza karşı direnci geliştirirken hem de alternatif kompleman yolunu inhibe ederek, kompleman sisteminin bakterisidal etkisini yok eder<sup>54,57,98</sup>. Menenjitli yenidoğanlardan izole edilen *E. coli* suşlarının çoğu K1 kapsülü taşımaktadır<sup>45</sup>.

**Sideroforlar:** Sideroforlar, demir bağlamaya yüksek eğilim gösteren bileşiklerdir. Mikroorganizmalar tarafından sentezlenen demir şelatörleridir ve Yunanca "demir taşıyan" anlamına gelir. Enterik bakteriler aerobaktin ve enterobaktin denilen iki tip siderofor içerir<sup>62</sup>. Aerobaktin ve enterobaktin,

UPEC'lerde demir bağlayan proteinlerdir. Aerobik metabolizmanın devamını sağlayarak, çoğalmaya yardımcı olur. Aerobaktin düzeyi akut piyelonefrit yapan kökenlerde, asemptomatik bakteriüri yapan kökenlerden daha fazla bulunmuştur<sup>99</sup>. Bakteriyel sideroforlar konağın demir bağlayan proteinleri ile yarışmaya girerler. Demir, konağın demir bağlayan proteinleri yerine bakteriyel sideroforlar tarafından bağlandığında, bakteri tarafından kullanılır. İdrar yolu infeksiyonlarına neden olan birçok *E.coli* suşu siderofor içerir<sup>100</sup>.

**Hareketlilik:** *E. coli*'nin de içinde bulunduğu bazı mikroorganizmalarda hareketi sağlayan flagellum adı verilen organel bulunur. Ortaları boş olan flagellumların, değişik rotasyon hareketleri ile *E.coli* sıvı ortamda aktif hareket eder<sup>101</sup>. Hareketlilik, bakterinin idrar akımına karşı koymasını kolaylaştırarak, üriner sisteme daha kolay yerleşmesini sağlar<sup>99</sup>.

#### **2.2.4. Epidemiyolojisi ve Yaptığı Enfeksiyonlar**

*E. coli*, kalın barsak florası içinde yer alan en yaygın fakültatif anaerob türdür. Barsak florasının normal flora elemanı olarak barsakların patojen mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonunu önlemeye çalışır<sup>45</sup>. *E.coli* bağırsak flora bakterisi olması nedeniyle fekal-oral yoldan kolaylıkla bulaşabilir. Hastanelerde alet sterilizasyonunun tam olarak yapılmadığı durumlar, el ve ortam temizliğinin yetersiz olduğu durumlar bakterinin bulaşma oranını artırmaktadır<sup>47</sup>. Çoğunlukla sığır, tavuk ve koyun gibi evcil hayvanlar, martı gibi yabani kanatlılar patojen suşların insanlara bulaştırılmasında önemli rol oynamaktadırlar<sup>102,103</sup>. Bununla birlikte, *E.coli* gerek gastrointestinal sistem, gerekse ekstraintestinal sistem infeksiyonlarında etken olabilir.

#### **Barsaklarda Oluşturduğu Enfeksiyonlar**

Barsak hastalığının en sık bulaşma yolu kontamine besinler ve sularla olmak üzere, fekal-oral yoldur<sup>104</sup>. İlk basamak organizmanın bakteri yüzeyinden dışarı çıkan pili aracılığı ile jejunum ve ileum hücrelerine yapışmasıdır. Bakteri tutunduğunda ishal yapmak üzere jejunum ve ileum hücrelerini etkileyen enterotoksinler üretir. Toksinler belirgin şekilde hücreye

özgüldür. Kalın barsak hücreleri olasılıkla toksine ait reseptörler taşımadıklarından duyarlı değildir. Patojenite mekanizmalarındaki farklılıklara göre beş tip barsak infeksiyonu tanımlanmıştır<sup>94</sup>.

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC): ETEC suşları sıklıkla turist diyarelerinin etkenidir. Gelişmekte olan ülkelerde daha sık görülür. Bulaşma insan çıkartılarıyla kontamine besinler ve sularla veya birey-birey temasıyla olur. ETEC hücreleri fimbriyalar aracılığıyla barsak mukozasına tutunarak ince barsağı kolonize eder. ETEC, sıcaklığa duyarlı (LT1 ve LT2) ve sıcaklığa dirençli (St<sub>a</sub> ve St<sub>b</sub>) toksinler salgılar. LT2, insandaki hastalık tablosuyla ilgili değilken LT1, hem fonksiyon olarak hem de yapısal olarak kolera toksinine benzer ve hastalık oluşumu ile ilgilidir. LT1, bir A alt ünitesi ve birbirinin aynı olan beş B alt ünitesinden oluşur. B alt üniteleri kolera toksini ile aynı reseptöre tutunur. A alt ünitesi, adenozin difosfat ribozil transferaz aktivitesi gösterir ve adenilat siklazı regüle eden membran proteini ile bu şekilde ilişki kurar. Bu ilişki sonucunda ortamda cAMP düzeyi artar. Böylece barsak mukoza hücrelerince klorid iyonlarının ve suyun artmış miktarlarda salgılanmasına neden olurken, sodyum reabsorpsiyonunu inhibe eder. Barsaklarda sıvı artışı olur, bunun sonucunda birkaç gün süren sulu diyare oluşur<sup>35</sup>.

İnsandaki hastalık tablosuyla ilişkili olan sıcaklığa dirençli toksin ise St<sub>a</sub>'dır. Transmembran guanilat siklaz reseptörüne bağlanarak cGMP düzeyinin artmasına neden olarak barsaklarda sıvı artışına ve sulu diyareye neden olur. ETEC'nin neden olduğu ishal 1-2 günlük inkübasyonu takiben gelişir. Sulu ishal ve karın krampları görülür. İntestinal mukozada histolojik bir değişiklik ya da enflamasyon gözlenmez<sup>35</sup>.

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC): Gelişmiş ülkelerdeki infeksiyonlarda en sık karşılaşılan suşlardır. Stx1, Stx-2 veya her ikisinin birden salgılanmasıyla oluşan bir hastalık tablosuna neden olurlar<sup>35</sup>. Mukozal invazyon veya inflamasyon olmadan ağır, kanlı diyareye (hemorajik kolit) neden olur. O157:H7 serotipi, verotoksin üreten *E.coli* serotipleri arasında en sık rastlanılanıdır. EHEC için esas kaynak sığırlardır. Bu nedenle, infeksiyon,

etlerin iyi pişirilmesi ve sütlerin pastörize edilmesiyle önlenir<sup>104</sup>. Hastalarda, 3-4 günlük bir inkübasyonu takiben kanlı olmayan ancak karın kramplarına neden olan ishal gözlenir. Hastalarda sıklıkla kusma da görülebilir<sup>35</sup>.

Enteroinvazif *E. coli* (EIEC): Enterotoksin salınımında bulunmayan bu tip, sıklıkla çocuklarda barsak mukozasında ülserlere ve pürülan sıvı salınımının artmasına yol açarak ishalleri yol açar. Nadiren görülen bir *E.coli* enfeksiyonudur. Suşların fenotipik ve patolojik özellikleri *Shigella*'ya benzerlik gösterir. Kolon epiteline yerleşip zarar vererek sulu ishale neden olurlar. Ateş ve kanlı dışkılamayla seyreden dizanteri benzeri bir tablo oluşur<sup>35</sup>.

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC): EPEC, özellikle hijyen koşullarının kötü olduğu yerlerde süt çocuğu diyarelerinin önemli etkenlerinden biridir. Yeni doğanlarda bulaşma doğum sırasında veya uterusu gerçekleşir. EPEC hücreleri ince barsak mukoza hücrelerini enfekte eder ve mikrovilluslarda yapısal bozukluklara ve karakteristik lezyonların oluşumuna neden olur. Sulu diyare gelişir, nadiren kronikleşir<sup>54</sup>.

Enteroaggregatif *E. coli* (EaggEC): Gelişmekte olan ülkelerde gezgin diyaresi ve küçük çocuklarda persistan diyare (14 günden fazla süren) etkenidir<sup>35</sup>.

### **Barsak Dışında Oluşturduğu Enfeksiyonlar**

Barsak dışı hastalıkların kaynağı sıklıkla hastanın kendi florasıdır. Hastanın kendi florasının üyesi olarak barsaklarda bulunan ve hastalık nedeni olmayan *E. coli*, mesane veya kan dolaşımı gibi, barsaklardan başka vücut dokularına ulaştığında hastalık nedeni olur<sup>104</sup>.

Üriner sistem enfeksiyonlarına, 50 yaşın üzerindeki kişilerde oluşan ve hastane kaynaklı olan pnömonilere, yeni doğan menenjitine, yaşlılarda meydana gelen yüksek mortaliteli menenjitte, travma ya da apandisit sonrası oluşan peritonite yol açabilirler. Bunların yanısıra, sepsis, septik artrit, endoftalmit, karaciğer absesi, sinüzit, osteomyelit, prostatla ilgili

enfeksiyonlar gibi pek çok hastalığın etkeni olarak da karşımıza çıkabilirler  
45,49,105

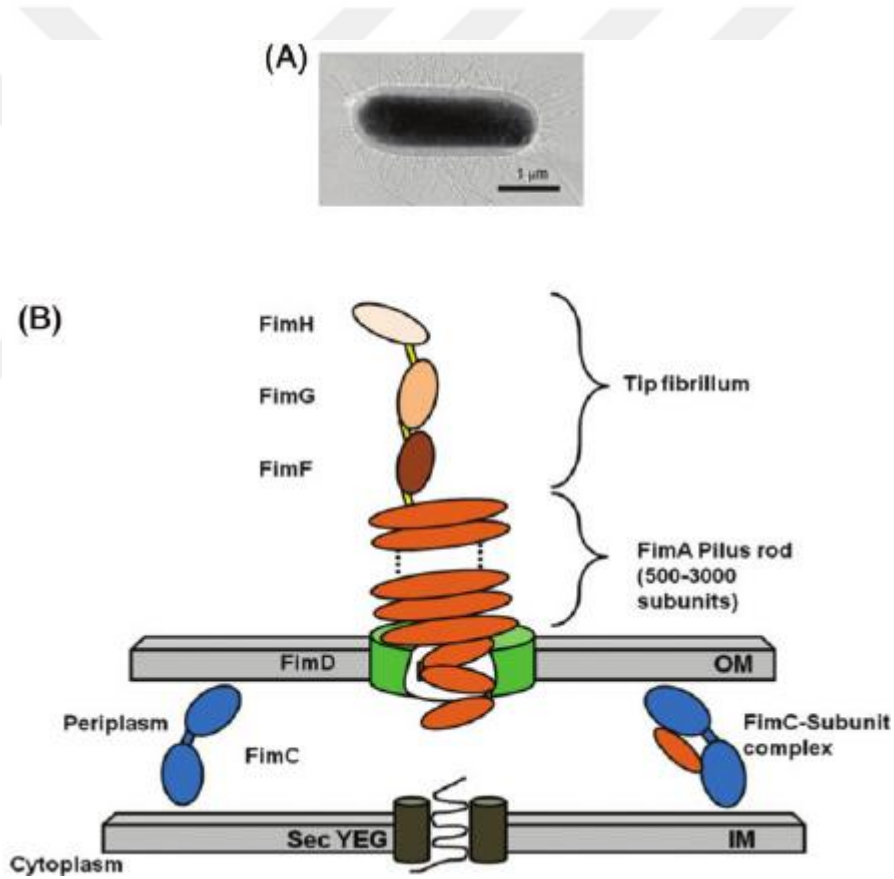
### 2.2.5. *E.coli*'de Direnç

*E.coli*, dış koşullara oldukça dirençli bir bakteridir. 60°C ısıda 30 dakika, 55°C'de 60 dakika, oda ısısında uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa karşı dirençlidir ve dezenfektanlara karşı duyarlıdır. *E.coli*; benzilpenisilinlere, glikopeptidler, fusidik asit, makrolidler, linkozamidler, streptograminler, rifampisin, daptomisin ve linezolide karşı doğal dirençlidir. Bakterilerde direnç geçişi kromozomal ya da plazmid aracılığı ile olabilir. Kromozomal dirençte ya ilacın hedefinde ya da ilacın yakalamasını denetleyen membran taşıma sistemini kodlayan gende mutasyon vardır. Direnç plazmidleri (R faktörleri) kromozom dışı, çembersel, çift iplikli DNA molekülleri olup antibiyotikleri yıkabilen ve membran taşıma sistemlerini değiştirebilen çeşitli enzimlere ait genleri taşırlar. Bakteriden bakteriye geçebilen bulaşıcı direnç plazmidlerini kazanması ile amoksisilin, tetrasiklin, aminoglikozid, florokinolon ve trimetoprim-sulfametoksazol dirençli hale gelirler<sup>55,56</sup>.

### 2.3. FimH

Üriner sistem enfeksiyonlarının %80'inden fazlası, tip1 fimbria olarak bilinen filamentli yapışkan organeller ile donatılmış *E.coli* suşlarından kaynaklanır. *E.coli*, insanların ve diğer hayvanların kalın bağırsağında, normal mikrobiyotanın bir parçası olarak bulunur. Tip1 fimbria hem normal ekoloji hem de patojenite açısından önemli kabul edilir. Kolonda *E.coli*'nin korunması için tip1 fimbria ekspresyonu gerekli olmayabilir. Fakat *E.coli*'nin konaklar arasında normal fekal/oral iletiminde orofaringeal bölgenin geçici kolonizasyonu için önemli bir avantaj sağlar. Komensal ekolojide bu önemli role ek olarak, tip1 fimbrialar idrar yolu enfeksiyonlarının patogenezi için de önemlidir. Tip1 fimbria, ucunda FimH adhesininin olmasıyla UPEC'in en önemli virülans faktörüdür. Tüm *E.coli* izolatlarının %95'inden fazlasında tip1 fimbria bulunur. Bakteri yüzeyinin her tarafına dağıtılan tip1 fimbria, 'chaperone-usher' yolu ile sentezlenir. Alt birimler 'SecYEG' translokon üzerinden periplazma içine salınır. Daha sonra FimC ("şaperon") protein

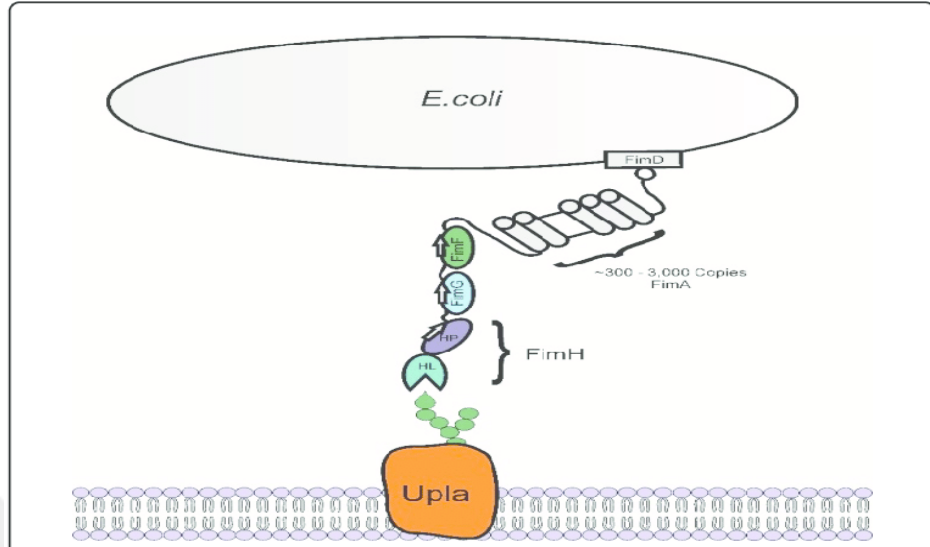
katlanmasını hızlandırır ve alt birimleri dış zardaki FimD proteinine ("usher") gönderir. Burada alt birimler büyüyen pilusa dahil edilir. Her bir tip1 fimbriyanın ana kısmı, binlerce kez tekrarlanan FimA pilin alt biriminden oluşan 7 nm(nanometre) genişliğinde bir helikal çubuktan oluşur. Pilusun distal kısmı ise iki adaptör protein ( FimF, FimG) ve mannoz-bağlayıcı adezin FimH tarafından oluşturulan 3 nm genişliğinde fibrillum yapısından oluşur<sup>106-110</sup>(Şekil 11). FimH proteini, 300 aminoasitlik bir prekürsör olarak üretilir, matur formu 279 aminoasitten oluşur. 30-kDa luk bir proteindir. Fimbrial organelin bileşenleri kromozomal yerleşimli *fim* gen kümesiyle kodlanır<sup>111</sup>.



**Şekil 11:** Tip1 fimbriyanın(A) elektron mikrografı ve (B) 'chaperone-usher'yolu<sup>112</sup>

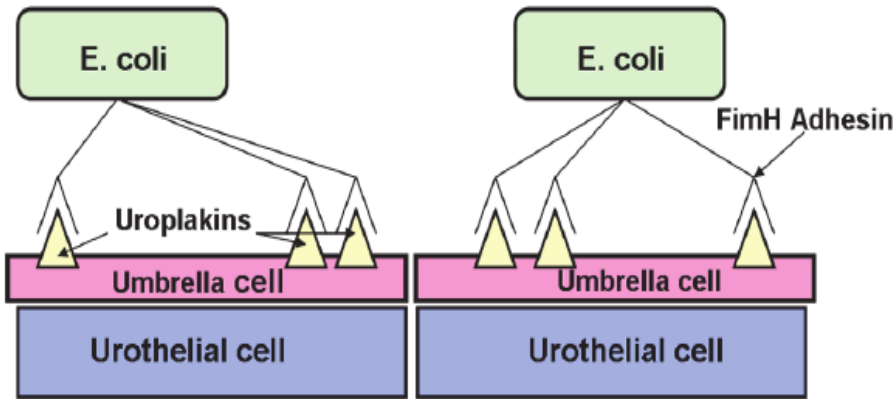
FimH, UPEC dahil olmak üzere *Enterobacteriaceae* ailesinin çoğu tarafından üretilen tip1 fimbriyanın ucunda bulunan mannoz bağlayan lektin benzeri adezindir. İki alt birimden oluşur; N-terminal alanı (HL) reseptör

bağlayıcı bölgeyi içerir ve C-terminal alanı (HP) organel entegrasyonu için gereklidir<sup>110</sup>.(Şekil 12)



Şekil 12: Tip 1 fimbria; fimH N-terminal alanı (HL) ve C-terminal alanı (HP) <sup>113</sup>

UPEC; FimH proteini aracılığı ile üroepitelyumun luminal yüzeyini kaplayan yüzeysel şemsiye hücrelerinin üroplakin adlı proteinlerine bağlanır<sup>108</sup>(Şekil 13).

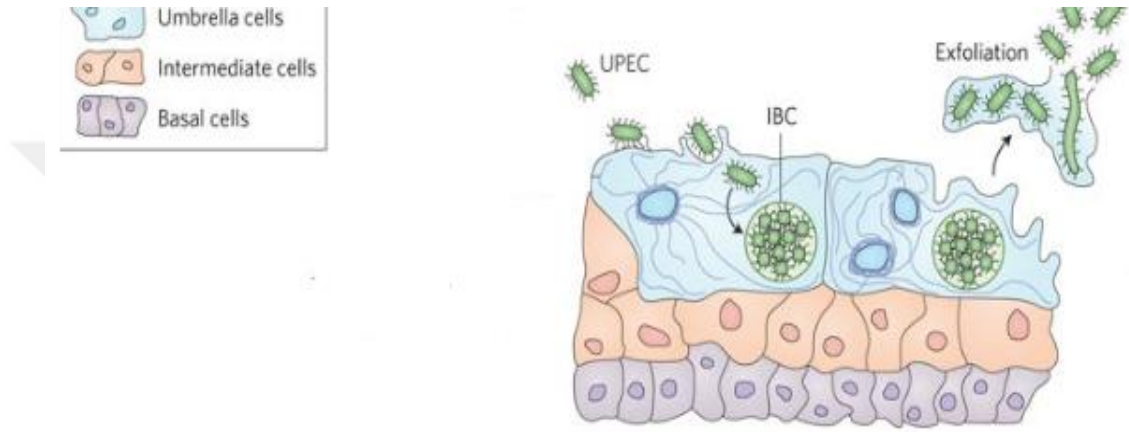


Şekil 13: FimH-üroplakin bağlanması <sup>114</sup>

FimH aracılı bakteriyel bağlanma, çeşitli kinazların aktivasyonu ve adaptör proteinlerinin yeniden aktive edilmesine sebep olur. Bu da bakterinin yutulması ve hücre içine invazyonu ile sonuçlanır. Bakteri mesane yüzeysel hücrelerinin sitoplazmasında ürer. IBC(intracellular bacterial communities



)olarak bilinen büyük biyofilm benzeri agregatlar (her biri 104-105 bakteri) olan hücre içi bakteriyel toplulukları oluşturur. Sitoplazmada bakteriler organize ve daha yoğun biyofilm yapısı olarak hemen tüm sitoplazmayı doldururlar. Bakteri, hücre içindeki koloniden ayrılır ve hücreyi terk eder. Yeni oluşan bakteri, lökositlere karşı daha donanımlı olmaktadır ve tekrardan hücre içine girebilir <sup>107,109</sup>(Şekil 14).



Şekil 14: IBC(intracellular bacterial communities) oluşumu <sup>115</sup>

Ürotelyal yüzey reseptörlerine FimH aracılı bağlanma; bakterinin ürotelyal yüzey üzerinde bir dayanak kazanmasını sağladığı ve bu nedenle miksiyon sırasında süpürülmesini önlediği için enfeksiyonu başlatmak için gereklidir. Bu bağlanma ayrıca UPEC'in ürotelyal hücrelerde kolonizasyonunda ve mesane epitelyal hücrelerine invazyonunda da kritik role sahiptir. Konakçı hücrelere böyle bir bakteriyel invazyon; patojenleri hücre dışı konakçı savunma mekanizmalarından korur, patojenin hücre içi yayılmasını veya konak hücrelerde sessiz bir halde kalmasına izin verir ve tekrarlayan enfeksiyonlara sebep olur<sup>107</sup>.

Fekal *E.coli* izolatlarının yaklaşık %80'inde, FimH adezin sadece trimannos reseptörlerine bağlanabilir. Buna karşılık, idrar yolu izolatlarının yaklaşık %70'inden elde edilen FimH adezinleri, monomannoz reseptörlerini

tanıma kabiliyetlerini arttıran minör mutasyonları (fekal izolatlara kıyasla) taşirlar <sup>116</sup>.



### 3. MATERYAL METOD

#### 3.1. Bakterilerin Seçimi

Haziran 2017-Haziran 2018 tarihleri arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına enfeksiyon şüphesi ile dahiliye yoğun bakım, cerrahi yoğun bakım, koroner yoğun bakım, kalp damar cerrahisi yoğun bakım, anaesteziyoloji ve reanimasyon yoğun bakım ünitelerinden gönderilen idrar örnekleri kültür için %5 koyun kanlı ve EMB ikili agara(RTA) ekimleri yapılmıştır. Kültürler 37° C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra üreme saptanan bakterilere ait tür tayini için çeşitli fenotipik testler uygulanmıştır. Çalışmamıza 34 *E.coli* suşu dahil edilmiştir.

#### Gram Boyama

Bakteriler Gram boyama yöntemiyle boyanmıştır. Suşlar, üretilen plaklardan, öze ile lam üzerine alınarak, 1 damla serum fizyolojik içerisinde süspanse edilmiştir. Lamlar kuruduktan sonra alev ile fikse edilip ve üzerleri kristal viyole solüsyonu ile kaplanmıştır. 1 dakika beklendikten sonra su ile yıkanmıştır. Lamlar lugol ile kaplanarak 1 dakika beklenmiştir ve su ile yıkanmıştır. Renk giderme işlemi için alkol kullanılmıştır ve 30 saniye sonra su ile yıkanmıştır. Lamlar, son olarak safranin ile kaplanmıştır ve 30 saniye beklendikten sonra su ile yıkanmıştır. Kuruması beklenen preparatlar, daha sonra üzerlerine 1 damla immersiyon yağı damlatılarak mikroskopun 100X objektifinde incelenmiştir. Gram negatif çomak olduğu tespit edilen suşlara bazı biyokimyasal testler uygulanmıştır.

#### Biyokimyasal Testler

**İndol Testi:** İndol testi, triptofan bulunan bir besiyerinde üretilen bakterilerin, triptofanı enzimatik hidrolize uğratarak indol oluşturup oluşturmadıklarını belirlemek amacıyla yapılan bir testtir ve *E.coli* için indol testi pozitifdir. Bakteriler, triptofanlı besiyeri içeren tüplere inoküle edilerek 37°C'de 24 saat

inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 0.2-0.3ml Kovaks ayırıcı ilave edilmiştir. Üst kısımda kırmızı halka oluşumu pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir.

**Üç şekerli demirli (TSI) besiyerine ekim:** Besiyeri, ferro sülfat, glukoz, laktoz ve sükroz içerir. Tüpte, yatık olarak hazırlanır. Dik kısım denilen ve tüpün alt kısmında yer alan, zayıf oksijenlenen bir bölüm ile eğri kısım denilen ve üstte yer alan, yatık ve iyi oksijenlenen bir kısımdan oluşur. Bakteri, laktozu fermente ediyorsa büyük miktarda asit açığa çıkar ve hem dik hem de eğri kısmın her ikisinde de fenol kırmızısı belirteci sarı renge döner. Bakteri, laktoz ve glukozu fermente etmiyorsa hem dik hem de eğri kısım kırmızı kalacaktır. H<sub>2</sub>S üretiliyorsa siyah renk görülür. *E.coli* için hem yatık hem de dip kısım sarıdır. Çalışmamızda, *E.coli* suşları, besiyerinin yatık kısmına çizgi ekim yöntemiyle pasajlandıktan sonra iğne öze ucu dik kısma daldırılıp çıkarılmıştır. Böylece bakteriler hem dik kısım içine, hem eğri kısmın yüzeyine ekilmiştir. Besiyerleri, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir ve renk değişimine göre değerlendirme yapılmıştır.

**Üreaz Testi:** Üre içeren besiyeri ile yapılır. Bu besiyerinin önemli bileşenleri üre ve pH belirteci olan fenol kırmızısıdır. Organizma üreaz yapıyorsa üre NH<sup>4</sup> ve CO<sub>2</sub>'e hidroliz olur. Amonyak besiyerini alkali yapar ve fenol kırmızısının rengi kırmızı-pembe olur. *E.coli* için üreaz negatiftir. Çalışmada, bakteriler üre içeren katı besiyerine pasajlanarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir ve renk değişimine göre değerlendirme yapılmıştır.

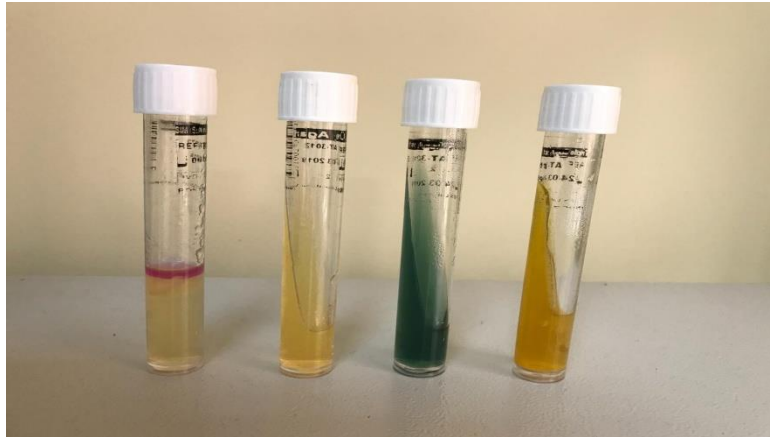
**Sitrat Testi:** Bu test mikroorganizmaların, besiyerlerine eklenen sitratı karbon kaynağı ve amonyum tuzlarını da nitrojen kaynağı olarak kullanabilme yeteneğini saptamada kullanılır. Bu amaçla Simmon's sitratlı besiyeri kullanılır. Simmon's sitratlı besiyerinde, uygun bir inkübasyon süresi sonunda hiçbir üremenin olmaması ve ortamın orjinal yeşil rengini koruması negatif reaksiyon ve üreme ile birlikte koyu mavi rengin meydana gelmesi de pozitif reaksiyon olarak değerlendirilir. *E.coli* sitrat testi negatiftir. Çalışmamızda, bakteriler, sitratlı agar besiyerine pasajlanmıştır ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası renk değişimi değerlendirilmiştir.

*E.coli* izolatları oksidaz enziminin olmaması, sitratı kullanamaması, indol üretebilmesi, glukozu, laktoz ve sükrozu fermente etmesi, üreaz enziminin olmaması, hareketli olması ve EMB agarda oluşturduğu kendine has yeşil metalik refle veren koloni görünümü gibi özelliklere göre tanımlanmıştır. Şüphede kalınan durumlarda tanımlama işlemi VITEK 2 (BioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile doğrulanmıştır.

İzolatlar çalışma yapılana kadar Luria-Bertani Buyyon (LB) besiyerine ekilip %15-20 gliserol ilave edilerek -20°C' de sonrasında -80°C'de saklanmıştır.



**Resim 1:** Çalışmamızdan İdrar Kültüründe üreyen *E.coli*



**Resim 2:** Çalışmamızdan *E.coli* biyokimyasal testleri (İndol(+), Üreaz(-), Sitrat(-), Glukoz, laktoz ve sükrozu fermente etmiş)

### 3.2. DNA (Deoksiribonükleik asit) İzolasyonu

Saklanan *E.coli* suşları DNA izolasyonu için yeniden canlandırılmıştır. Tek koloni düşürme yöntemi ile elde edilen bir koloni, aseptik şartlar altında mikrosantrifüj tüpü içerisindeki 1 ml Luria-Bertani Buyyon (LB) besiyerine ekilerek  $37 \pm 2$  °C'de,  $18 \pm 2$  saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda sırasıyla aşağıdaki basamaklar izlenmiştir.

- 1 dakika 13000 rpm devirde santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası üst sıvı mikropipet ile pelet oynatılmadan çekilmiştir.
- Üzerine 1 ml steril distile su eklendi ve vortekslenmiştir.
- Tekrar 1 dakika 13000 rpm devirde santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası üst sıvı mikropipet ile pelet oynatılmadan çekilmiştir.
- Üzerine 1 ml steril distile su eklenmiştir.
- Tüp içerisinde pipetaj yapılarak, pelet çözülmesi sağlanmıştır.
- Çözülen pelet kuru ısı bloğu (HLC by Ditabis, Almanya) içerisine alınarak, 97°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
- Süre sonunda mikrosantrifüj tüpleri oda sıcaklığına gelene kadar bekletilmiştir.
- Soğutmalı santrifüjde 4°C'de 10 dakika 13000 rpm'de tekrar santrifüjlenmiştir.
- Elde edilen üst sıvı, steril bir mikrosantrifüj tüpüne alınmıştır ve elde edilen DNA, kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

### 3.3. PCR Çalışması

DNA izolasyonu yapılmış örneklerden; amplifikasyonlar her bir örnek için toplam 50 µl hacimde gerçekleştirilmiştir. Her bir reaksiyon karışımının içeriği tabloda gösterilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3:** Her bir PCR reaksiyonu içeriği

Ürün	Hacim
Master mix	25 µl
Steril distile su	18 µl
DNA	5 µl
Primer F	1 µl
Primer R	1 µl
TOPLAM	50 µl

F ve R primerden 10 µM (100 µM'lük ana stoktan 10 µl alınıp üzerine 90 µl su eklenerek), ara stok oluşturulmuştur. *fimH* PCR analizi için kullanılan oligonükleotid DNA dizileri tabloda gösterilmiştir.

**Tablo 4:** *fimH* primerleri

Gen	Primer Dizisi
<i>fimH</i> (Forward )	5'-CGAGTTATTACCCTGTTTGCTG-3'
<i>fimH</i> (Reverse)	5'-ACGCCAATAATCGATTGCAC-3'

Tepkime, Veriti 96 Well Thermal Cycler'da (Applied Biosystem, ABD) gerçekleştirilmiştir. Döngüler sırası ile aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

**Tablo 5:** *fimH* PCR döngüleri

	Sıcaklık	Süre	
İlk denaturasyon	96 °C	2 dakika	1 siklus
Denaturasyon	95 °C	30 saniye	} 25 siklus
Primer eşleşmesi(Annealing)	52 °C	30 saniye	
Uzama(Extension)	72 °C	1dakika20saniye	
Son uzama(Final extension)	72 °C	5 dakika	}
	4 °C	∞	

Oluşan ürünlerin gözlemlenmesi için yatay jel elektroforezi kullanılmıştır. Elektroforez için Tris-Asetikasit-EDTA (TAE) tamponu içerisinde %1'lik agaroz jel aşağıdaki basamaklara göre hazırlanmıştır ve elektroforez yapılmıştır:

- Temiz bir erlen içerisinde 80 ml 1XTAE tampon içerisine 1 g agaroz (Vivantis, Malezya) ilave edilmiştir.
- Üzerine, 100 ml'ye tamamlanacak şekilde 1XTAE tamponu ilave edilmiştir.
- Mikrodalga fırında agaroz tamamen eriyinceye kadar ısıtılmıştır.
- Jel sıcaklığı yaklaşık 50-55°C' ye düşene kadar soğutulmuştur.
- İçerisine 10 mg/ml' lik stok Etidyum Bromür solüsyonundan %0.5 µg/ml olacak şekilde 5 µl ilave edilmiştir.
- Elektroforez yatağına taraklar takılıp agaroz elektroforez yatağına alınmış ve yaklaşık 30 dakika polimerizasyona bırakılmıştır.
- Polimerizasyon sonunda taraklar çıkarılmış, jel elektroforez tankına (Thermo Scientific, ABD) alınmıştır.
- Jelin üzeri kapanacak şekilde 1XTAE tamponu ilave edilmiştir.
- PCR ürünleri, VC 100 bp Plus DNA Ladder (Vivantis, Malezya) ve negatif kontrol jelin kuyucuklarına yüklenmiştir.
- 7 V/cm ile 2 saatte elektroforez gerçekleştirilmiştir.
- Sonuçlar, Minilumi (DNR, İsrail) jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir.

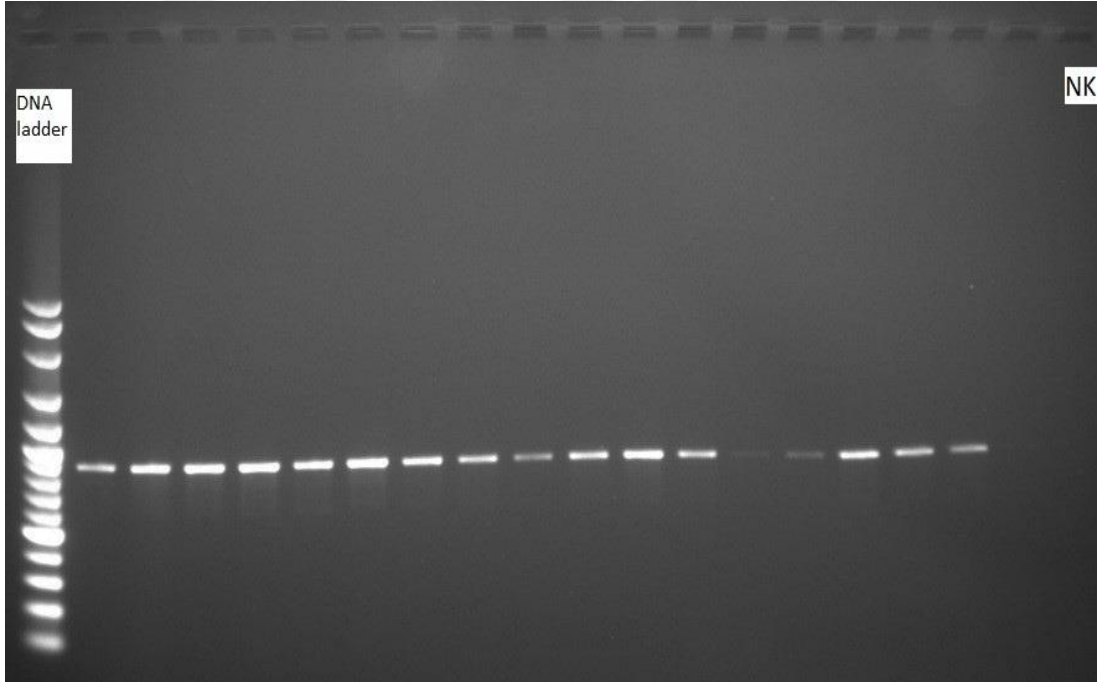
PCR sonucu *fimH* pozitif (+) olan suşların PCR ürünleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi TTU-2018-940 nolu proje kapsamında sekans için firmaya (Sentegen Biotech, Türkiye) gönderilmiştir.

Sekans sonuçları, *Escherichia coli* ATCC 700415 (GenBank: CP022609.1) referans suşu kullanılarak; Clustal 2.1 Multiple Sequence Alignment' te filogenetik analiz yapılmıştır.



#### 4. BULGULAR

Çalışmamıza Haziran 2017-Haziran 2018 tarihleri arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına enfeksiyon süphesi ile dahiliye yoğun bakım, cerrahi yoğun bakım, koroner yoğun bakım, kalp damar cerrahisi yoğun bakım, anesteziyoloji ve reanimasyon yoğun bakım ünitelerinden gönderilen idrar örneklerinde üreyen 34 *E.coli* suşu dahil edilmiştir. Yapılan PCR çalışmasında 34 örnekten 32 sinde(%94) *fimH* pozitif; 2 sinde *fimH* negatif bulunmuştur. Şekil 15'te 18 suşun *fimH* PCR sonrası agaroz jel görüntüsü gösterilmiştir. (Şekilde 15'te agaroz jel görüntüsü görülen 18 örnekten 17 sinde *fimH* pozitif )



Şekil 15: Çalışmamızdan agaroz jel görüntüsü (NK: Negatif Kontrol)

PCR sonrası *fimH* pozitif olan suşların PCR ürünleri sekans için firmaya (Sentegen Biotech, Türkiye) gönderilmiştir. Sekans sonuçları Clustal 2.1 Multiple Sequence Alignment'te filogenetik analiz yapılmıştır. 100-500 bp arasında toplam 42 polimorfik bölge saptanmıştır. 101-151 bp arasında 3 polimorfik bölge (Şekil 16), 151-200 bp arasında 4 polimorfik bölge (Şekil 17), 201-250 arasında 6 polimorfik bölge (Şekil 18), 251-300 bp arasında 5 polimorfik bölge (Şekil 19), 301- 350 bp arasında 7 polimorfik bölge (Şekil 20), 351-400 bp arasında 4 polimorfik bölge (Şekil 21), 401-450 bp arası 3 polimorfik bölge (Şekil 22), 451-500 bp arası 9 polimorfik bölge (Şekil 23) saptanmıştır.

```

Escherichia      GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample1          GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample10         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTACCCAGAAACCAT
Sample11         GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTACCCGGAAACCAT
Sample12         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample15         GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample16         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample17         GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample18         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample2          GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample20         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample21         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample23         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample24         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample25         GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample26         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample27         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample28         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample3          GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample30         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample32         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample33         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample34         GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample35         GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample36         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample37         GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample38         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample4          GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample40         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample41         GTAGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample5          GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample7          GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
Sample8          GTGGATCTTTCGACGCAAATCTTTTGCCATAACGATTATCCGGAAACCAT
*****

```

Şekil 16: 101 –150 bp arası sekans dizisi (3 polimorfik bölge)



Escherichia	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample1	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample10	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample11	ACCACCAGTAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample12	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample15	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample16	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample17	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample18	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample2	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample20	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample21	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample23	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample24	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample25	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample26	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample27	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample28	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample3	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample30	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample32	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample33	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample34	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample35	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample36	ACTACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample37	ACCACCAGTAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample38	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample4	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample40	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample41	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample5	ACCACCAGCGAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample7	ACCACCAGTAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC
Sample8	ACCACCAGTAAACGCCGCGGTTGTTTATAATTGAGAACGGATAAGCC

\*\*\*\*\*

**Şekil 19:** 251-300 bp arası sekans dizisi (5 polimorfik bölge)

Escherichia	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample1	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample10	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGGTGGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample11	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample12	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample15	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample16	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample17	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample18	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample2	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample20	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample21	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample23	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample24	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample25	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample26	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample27	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGGGAGSTGG
Sample28	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample3	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample30	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample32	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample33	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample34	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample35	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample36	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGGTGGSTGG
Sample37	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample38	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample4	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample40	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample41	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample5	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample7	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG
Sample8	GTGGCCGGTGGCGCTTTATTTGACGCCGTGAGCAGTGCGGCGGGSTGG

\*\*\*\*\*

**Şekil 20:** 301-350 bp arası sekans dizisi (7 polimorfik bölge)

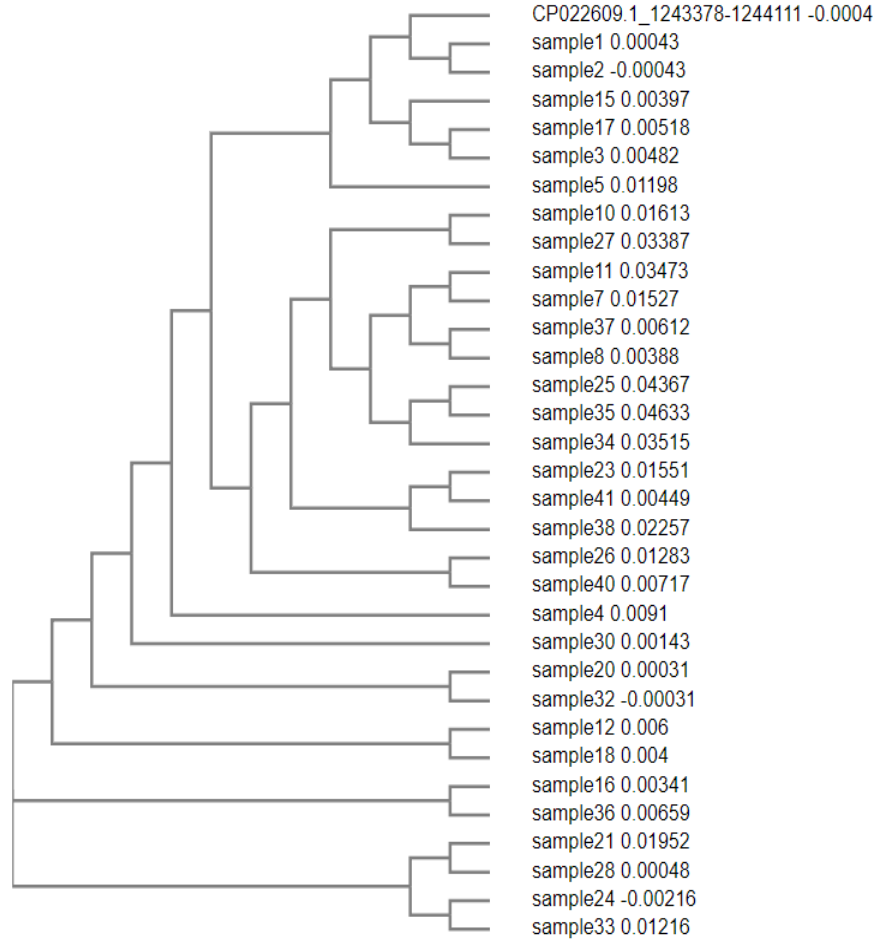


Escherichia	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample1	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample10	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample11	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGT-A
Sample12	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample15	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample16	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample17	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample18	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample2	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample20	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample21	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample23	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample24	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample25	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample26	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample27	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample28	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample3	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample30	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample32	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample33	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample34	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample35	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample36	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCATGATGTCA
Sample37	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample38	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample4	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample40	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample41	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample5	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample7	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA
Sample8	TGATGTGGTGGTGCCTACTGGCGGCTGCGATGTTTCTGCTCGTGATGTCA

\*\*\*\*\* \* \* \* \* \*\*\*\*\* \* \* \* \* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*

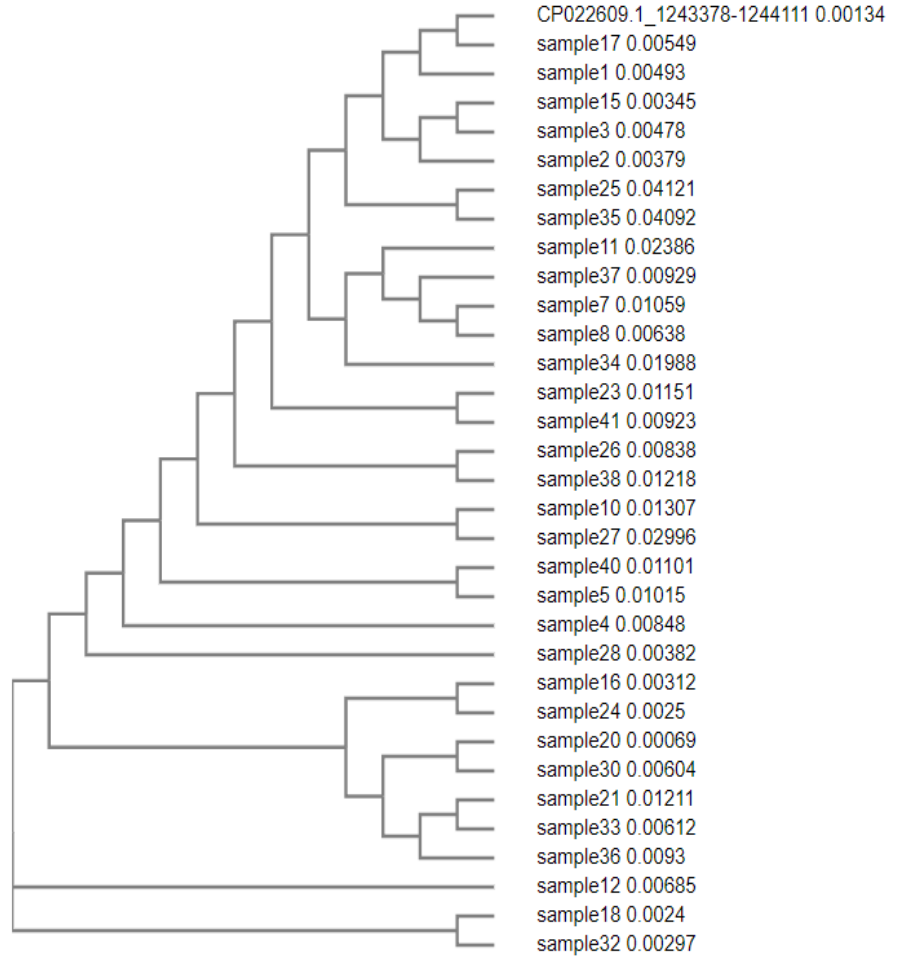
Şekil 23: 451-500 bp arası sekans dizisi (9 polimorfik bölge)

32 *fimH* pozitif suş ve referans suşun (*Escherichia coli* ATCC 700415 (GenBank: CP022609.1)) suşlar arası filogenetik ilişkisini gösteren 'guide tree' ve filogenetik ağaç Şekil 24'te ve Şekil 25'te gösterilmiştir.



Şekil 24: *fimH*(+) suşların ve referans suşun 'guide tree' si

Filogenetik ağaçta görüldüğü gibi 32 suş 3 terminal grup ve 21 subterminal gruba ayrılmıştır(Şekil 25).



**Şekil 25:** Filogenetik ağaç (Neighbour-joining tree)



Referans suşun ve *fimH(+)* suşların benzerlik matrisi ( identity matrix) şekil 26'da gösterilmiştir.

1: Escherichia	100.00	99.45	95.49	96.16	97.27	99.03	97.40	99.32	97.88	99.18	97.88	97.13	97.54	97.57	94.65	97.68	93.77	97.36	98.77	97.68	97.40	97.14	97.00	95.13	97.27	97.68	97.81	97.68	97.42	98.00	97.96	97.28	97.95
2: Sample1	99.45	100.00	95.01	95.67	96.89	98.77	97.30	96.65	97.57	98.79	97.56	96.36	97.16	97.32	94.16	97.17	93.71	97.67	98.65	97.17	97.30	96.77	96.64	94.72	97.03	97.57	97.70	97.57	97.46	98.48	97.98	97.04	97.57
3: Sample10	95.49	95.01	100.00	93.55	95.27	95.07	95.58	95.31	95.29	95.28	95.73	95.83	95.35	95.36	91.06	95.39	95.70	95.48	95.27	95.44	95.40	95.56	94.13	91.56	95.15	95.15	95.08	95.28	94.92	94.90	94.87	94.76	94.76
4: Sample11	96.16	95.67	93.55	100.00	94.23	96.15	95.39	95.63	94.86	95.93	94.90	94.69	95.32	95.34	92.45	95.27	93.80	95.19	95.47	94.61	94.65	95.10	95.29	93.29	94.50	96.74	94.63	95.02	95.04	95.57	94.50	96.36	96.41
5: Sample12	97.27	96.89	95.27	94.23	100.00	97.12	98.93	96.86	98.92	97.16	99.07	97.51	96.93	98.07	92.90	96.93	96.90	96.84	98.25	98.94	98.31	95.44	92.65	98.36	96.82	96.62	98.00	97.32	96.69	97.04	96.15	96.33	
6: Sample15	99.03	98.77	95.07	96.15	97.12	100.00	97.12	98.63	97.12	99.17	97.53	96.44	97.53	96.91	94.17	97.53	93.72	97.26	99.18	97.12	96.99	96.99	97.13	94.85	96.71	97.67	97.39	97.95	97.18	98.07	97.54	97.54	97.53
7: Sample16	97.40	97.30	95.58	95.30	98.93	97.12	100.00	97.19	99.19	97.43	99.19	97.99	96.91	99.44	93.18	97.72	93.44	99.18	97.18	98.66	99.20	98.80	95.70	92.98	98.40	96.65	97.05	98.26	97.75	97.51	97.86	96.26	96.78
8: Sample17	99.32	98.65	95.31	95.63	96.86	98.63	97.19	100.00	97.17	98.92	97.60	96.19	97.21	97.33	94.18	97.51	93.45	96.85	98.55	97.18	97.07	96.71	96.78	94.59	96.99	97.52	96.68	97.39	97.04	98.21	97.65	96.87	96.98
9: Sample18	97.68	97.57	95.29	94.86	98.92	97.12	99.19	97.17	100.00	97.29	99.46	97.98	96.76	99.30	93.47	97.83	93.28	99.18	97.30	98.92	99.46	98.53	95.04	92.83	98.26	96.51	97.03	98.65	97.61	97.66	97.88	96.38	97.44
10: Sample2	99.18	98.79	95.28	95.93	97.16	99.17	97.43	98.92	97.29	100.00	97.83	96.36	97.43	97.60	94.43	97.70	93.54	97.25	98.92	97.71	97.44	97.17	97.04	94.54	96.89	97.57	97.43	97.71	97.31	98.20	97.84	97.04	97.44
11: Sample20	97.68	97.56	95.73	94.98	99.07	97.53	99.19	97.68	99.46	97.83	100.00	98.27	97.33	99.58	93.72	97.86	93.72	99.04	97.33	99.33	99.60	98.94	95.97	93.44	98.67	96.08	97.19	98.40	97.88	97.79	98.13	96.28	97.20
12: Sample21	97.13	96.36	95.83	94.69	97.51	96.44	97.99	96.19	97.98	96.38	98.27	100.00	96.41	98.45	93.85	96.45	93.47	98.22	96.04	97.99	97.88	98.18	94.92	93.47	97.77	95.54	96.06	96.99	96.98	96.55	96.34	95.17	95.40
13: Sample23	97.54	97.16	95.35	95.32	96.93	97.53	96.91	97.21	96.76	97.43	97.33	96.41	100.00	97.18	93.45	98.00	94.18	96.98	96.93	96.90	96.93	96.81	96.51	93.45	97.28	97.07	97.07	97.68	97.31	97.93	97.07	95.88	96.40
14: Sample24	97.57	97.32	95.36	95.34	98.07	96.91	99.44	97.33	99.30	97.68	98.58	98.45	97.18	100.00	93.18	97.46	93.43	99.02	97.84	99.01	99.16	98.74	96.35	92.93	98.74	96.49	96.90	98.17	97.75	97.47	97.75	96.07	96.62
15: Sample25	94.65	94.16	91.06	92.45	92.98	94.17	93.18	94.18	93.47	94.43	93.72	93.85	93.45	93.18	100.00	94.02	98.72	93.83	94.30	92.89	93.61	93.63	92.92	91.79	92.48	92.91	93.61	93.32	93.16	93.75	94.04	93.06	93.61
16: Sample26	97.68	97.17	95.39	95.27	96.93	97.53	97.72	97.51	97.83	97.70	97.86	96.45	98.00	97.46	94.02	100.00	93.73	97.39	97.24	97.45	97.47	97.12	96.23	93.91	96.47	95.45	97.04	96.29	97.74	97.51	97.72	95.83	96.33
17: Sample27	93.77	93.71	95.78	93.88	93.38	93.72	93.44	93.45	93.28	93.54	93.72	93.47	94.18	93.43	98.72	93.73	100.00	93.27	93.43	92.97	93.30	93.62	92.40	91.18	93.46	93.61	92.87	93.38	93.26	93.43	92.42	93.18	93.81
18: Sample28	97.36	97.67	95.48	95.19	98.90	97.26	99.18	96.85	99.18	97.25	99.04	98.22	96.98	99.02	93.83	97.39	93.17	100.00	97.26	98.90	98.84	98.77	96.17	93.06	98.36	96.44	97.39	98.63	97.61	96.96	97.95	96.31	96.71
19: Sample3	98.77	98.65	95.27	95.47	96.04	99.18	97.18	98.55	97.38	98.92	97.33	96.84	96.93	97.84	94.30	97.24	93.43	97.26	100.00	97.18	97.20	96.84	96.37	94.24	96.58	97.37	97.18	97.90	97.32	98.20	97.77	97.38	97.50
20: Sample30	97.88	97.17	95.44	94.61	98.25	97.12	98.66	97.18	98.92	97.71	99.33	97.99	96.90	99.01	92.89	97.45	92.97	98.98	97.18	100.00	98.66	98.26	96.11	92.97	98.39	96.11	96.77	98.12	97.61	97.38	97.45	96.11	96.94
21: Sample32	97.40	97.30	95.48	94.65	98.94	96.99	99.20	97.07	98.46	97.44	98.68	97.88	96.93	99.16	93.61	97.47	93.30	99.04	97.28	98.66	100.00	98.67	95.71	92.98	98.27	96.41	96.80	98.40	97.46	97.11	98.27	96.02	96.94
22: Sample33	97.14	96.77	95.56	95.18	98.31	96.99	98.80	96.71	98.53	97.17	98.94	98.18	96.81	98.74	93.63	97.12	93.62	98.77	96.84	98.26	98.67	100.00	95.87	93.16	98.31	96.35	96.48	97.91	97.46	96.84	97.14	95.58	96.19
23: Sample34	97.00	96.64	94.13	95.29	95.44	97.13	95.78	96.78	95.84	97.84	95.97	94.92	96.51	96.35	92.92	96.33	92.40	96.17	96.37	96.11	95.71	95.87	100.00	93.33	97.11	96.25	95.56	96.51	96.76	96.78	96.39	95.87	96.11
24: Sample35	95.13	94.72	91.56	93.29	92.65	94.85	92.98	94.59	92.83	94.54	93.44	93.47	93.45	92.93	91.79	93.91	91.18	93.06	94.24	92.97	92.98	93.16	93.33	100.00	92.68	92.68	93.46	93.29	93.38	93.89	93.47	92.85	92.65
25: Sample36	97.17	97.03	95.15	94.58	98.36	96.71	98.40	96.99	98.26	96.89	98.67	97.77	97.20	98.74	92.48	96.47	93.46	98.36	96.58	98.39	98.17	98.31	95.71	92.68	100.00	96.35	95.91	97.66	97.04	96.69	97.82	96.28	95.81
26: Sample37	97.88	97.57	95.15	96.74	96.82	97.67	96.65	97.52	96.51	97.57	96.88	95.54	97.87	96.49	92.91	95.45	93.61	96.44	97.37	96.11	96.41	96.35	96.25	92.68	96.35	100.00	95.66	95.95	96.85	97.25	96.65	98.00	98.17
27: Sample38	97.81	97.70	95.08	94.63	96.62	97.39	97.85	96.88	97.89	97.43	97.19	96.86	97.87	96.98	93.61	97.94	92.87	97.39	97.18	96.77	98.00	96.48	95.56	93.46	95.91	95.66	100.00	97.23	97.46	97.65	97.18	96.82	96.46
28: Sample4	97.68	97.57	95.28	95.82	98.00	97.95	98.26	97.39	98.65	97.71	98.40	96.99	97.68	98.17	93.32	96.29	93.30	98.63	97.98	98.12	98.40	97.91	96.51	93.29	96.76	95.95	97.23	100.00	97.89	97.66	97.96	96.21	97.38
29: Sample40	97.42	97.46	94.92	95.04	97.32	97.18	97.75	97.04	97.61	97.31	97.88	96.90	97.31	97.75	93.16	97.74	93.26	97.61	97.32	97.61	97.46	97.46	96.76	93.38	97.84	96.85	97.46	97.89	100.00	98.31	97.88	95.92	96.61
30: Sample41	98.68	98.48	94.88	95.57	96.69	98.07	97.51	96.21	97.66	98.20	97.79	96.55	97.93	97.47	93.75	97.51	93.43	96.96	98.20	97.38	97.11	96.84	96.78	93.89	96.69	97.25	97.65	97.66	96.31	100.00	97.66	96.84	97.66
31: Sample5	97.96	97.98	94.87	94.58	97.84	97.54	97.86	97.65	97.88	97.84	98.13	96.34	97.87	97.75	94.84	97.72	92.42	97.65	97.77	97.45	98.27	97.14	96.39	93.47	97.82	96.65	97.18	97.96	97.88	97.66	100.00	96.53	96.99
32: Sample7	97.28	97.04	94.76	96.36	96.15	97.54	96.26	96.87	96.38	97.84	96.28	95.17	95.88	96.87	93.86	95.83	93.18	96.31	97.38	96.11	96.82	95.58	95.87	92.85	96.28	98.00	96.82	96.21	95.92	96.84	96.51	100.00	98.38
33: Sample8	97.95	97.57	94.76	96.41	96.33	97.53	96.78	96.98	97.44	97.44	97.28	95.40	96.48	96.62	93.61	96.33	93.81	96.71	97.58	96.64	96.94	96.19	96.11	92.65	95.81	98.17	96.46	97.38	96.61	97.66	96.99	98.38	100.00

Şekil 26: *fimH (+)* suşların ve referans suşun yüzde benzerlik matrisi (identity matrix)

## 5. TARTIŞMA

ÜSE, insanlarda en sık morbiditeye yol açan ve sağlık alanında ciddi harcamalara neden olan enfeksiyonlardan biridir<sup>117</sup>. ÜSE'ler üriner sistemin farklı bölümlerini etkiler ve enfeksiyon bölgelerine göre çeşitli hastalık gruplarına ayrılır. Asemptomatik bakteriüriden, sepsise yol açabilecek akut piyelonefrite kadar değişebilen çok farklı klinik formları tanımlar<sup>118-120</sup>. ÜSE, nozokomial enfeksiyonlar içerisinde de sıklık açısından birinci sırada yer alır. Nozokomial enfeksiyonların %40- 60'ından sorumludur. Yoğun bakım ünitelerinde pnömonilerle beraber en sık görülen iki enfeksiyondan biridir. UPEC suşları, ÜSE geçiren hastaların yaklaşık %80'inde birincil patojen olarak kabul edilmektedir<sup>3</sup>. UPEC tarafından enfeksiyonun başarılı bir şekilde başlatılması için konakçı hücrelere adezyon, dokuların kolonize edilmesi, hücresel invazyon gibi aşamalar gereklidir. Bu olaylar birçok virülans faktörlerinin varlığına bağlı farklı hücresel ve moleküler yolları içerir<sup>121</sup>. Siderofor reseptörlerini kodlayan genler, demir alım sistemi, tip 1 fimbria kodlayan genler ve hemolizin kodlayan gen gibi çeşitli virülans faktörleri UPEC suşlarının virulansını ve ÜSE'lerin şiddetini arttırmaktadır<sup>122,123</sup>.

ÜSE patogeneğinde aderans önemli bir adımdır. Bakterilerin konak hücrenin yüzeyine yapışması; kolonizasyonun ve enfeksiyonun asıl başlangıç aşamasıdır<sup>124</sup>. Bu aşama diğer hücre ve yüzeylere yapışmayı mümkün kılan bakteri uzantıları olan adhezin adı verilen yapılar tarafından gerçekleştirilir. Tip 1 fimbria adezyonu, UPEC'lerin üriner sistem epiteline yapışma mekanizmasında çok önemli olan en iyi tanımlanan bakteriyel adezyonlardır. Tip 1 fimbrialar, en önemlisi FimH olarak tanımlanan bir adhezyon proteini olan birkaç alt birim içerir. Tip 1 fimbriaların ucunda yer alan FimH, üriner sistemde UPEC'lerin patogeneze mekanizmasında önemli bir rol oynar. İdrar yolunun epitel hücrelerinde bulunan  $\alpha$ -D-mannosile edilmiş glikoproteinlere bağlanmaya aracılık eder<sup>4,5</sup>.

ÜSE'de, UPEC patogenezi ile ilgili yapılan çalışmalarda *fimH* geni bulunma sıklığı yüksek oranlarda bulunmuştur. Andreu ve arkadaşları ÜSE'li hastalarından izole edilen *E.coli* suşlarında *fimH* geninin insidansını %90 olarak saptamışlardır<sup>6</sup>. Hojati ve arkadaşları da 140 *E.coli* izolatu arasında *fimH* geni sıklığını yüksek oranda (%92.8) bildirmişlerdir<sup>125</sup>. Yapılan başka bir çalışmada Romalı erişkinlerden izole edilen *E.coli* suşlarında *fimH* geninin insidansı %86 idi<sup>126</sup>. Joachim ve arkadaşları da UPEC suşlarında *fimH* sıklığının %95 olduğunu bildirmişlerdir. ÜSE tanılı hastalardan izole edilen *E. coli*'lerde virülans genleri üzerinde yapılan başka çalışmada Tarchouna ve arkadaşları *fimH* geninin prevalansını %68 bulmuşlardır<sup>127</sup>. Biz de çalışmamızda yapılan çalışmalarla benzer şekilde *fimH* sıklığını %94 bulduk. ÜSE'lere ilişkin tüm çalışmalarda *fimH* geninin yüksek sıklığı, *E.coli* patogenezinde bu virülans faktörünün kritik rolünü gösterir.

Yapısal ve düzenleyici genlerdeki çeşitli SNP'lerin, tüm organizmaların biyolojisi üzerinde kayda değer etkileri vardır<sup>128</sup>. İnsan genomunda SNP analizleri, bazı spesifik SNP'lerle çeşitli hastalıklar arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>129</sup>. Bu tür çalışmalar, potansiyel bireylerin erken teşhisi için farklı biyobelirteçlerin tanımlanmasına ve keşfine yol açmaktadır<sup>130</sup>. Son yıllarda, bakteriyel patojenlerin farklı düzenleyici ve yapısal genlerinde de patoadaptif mutasyonlara ait olan birçok SNP keşfedilmiştir. Yapılan çalışmalarda, bakteriyel patojenlerin farklı SNP'leri ile patojenin virulansı ve yaptığı hastalığın şiddeti arasındaki ilişki ortaya koyulmaya çalışılmıştır<sup>111,120</sup>. FimH alt ünitesinin farklı fenotipik varyantlarının, üriner sistemin kolonizasyonunda ve ÜSE patojenitesinde bakterilere önemli avantajlar sağladığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir<sup>7,8</sup>. Tartof ve arkadaşları FimH fenotipik varyantlarının temel olarak *fimH* genindeki SNP'lerin sonucu olduğunu bildirmişlerdir<sup>9</sup>.

Toll-benzeri reseptörler (TLR) ailesindeki farklı polimorfizmler gibi insandaki genetik varyasyonlar, ÜSE'ye yatkınlık oluşturur. *E.coli* virülans genleri insan duyarlılık faktörlerinin yanı sıra, ÜSE'lerin etiyojisinde de ana faktörlerdir<sup>117,131,132</sup>. Çoğu ÜSE'ye neden olan UPEC suşlarının, çoklu

virölans faktörleri ile genetik olarak farklı bir grup oluşturduğu bildirilmiştir<sup>133</sup>. Genel olarak, konak ve patojendeki çeşitli faktörlerin kombinasyonu, ÜSE'lere bireysel duyarlılığı belirlemiştir.

Biz de çalışmamızda yoğun bakım hastaların idrar kültürlerinden izole ettiğimiz *E.coli* lerde *fimH* gen bölgesindeki SNP'leri araştırdık. *fimH* SNP analizinin UPEC'in epidemiyolojik çalışmaları için bir tarama testi olarak kullanılabileceğini gösteren çalışmalar vardır<sup>9,134,135</sup>. Bizim çalışmamız epidemiyolojik amaçlı değil *fimH* bölgesindeki olası SNP'leri ortaya koymak ve bu SNP'lerin virülansta yapabileceği değişikliklerle ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutmaktır.

Çalışmamızda 32 suşun *fimH* bölgesini sekansladık ve benzerlik matrisinde görüleceği gibi en az benzer suşun bile referans suşla benzerliğini %93.77 bulduk. Diğer suşların da referans suşla benzerlikleri benzerlik matrisinde de görüleceği gibi %99.45 ile %93.77 arasındadır. Bu da bakterinin patogenezinde *fimH* yapısının korunduğunu göstermektedir. Fakat bu SNP'lerin bakterinin virülansına ne tür bir katkı sunduğunu göstermek için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. FimH bölgesinin aminoasit dizi analizi yapılması ve ortaya çıkan değişikliklerin üriner sistemin epitel hücrelerine yapışma eğilimleri üzerine etkisinin belirlenmesi bizim yaptığımız çalışmanın ışığında patogenezin anlaşılmasına çok büyük katkılarının olacağına inanmaktayız.

## 6. KAYNAKLAR

1. *KLİMUD ÜRİNER SİSTEM ÖRNEKLERİ KLİNİK ÖRNEKTEN SONUÇ RAPORUNA UYGULAMA REHBERİ*.  
<https://www.klimud.org/public/uploads/files/uriner-sistem-ornekleri.pdf>.  
Accessed August 7, 2018.
2. Orucu M, Geyik MF. Yoğun Bakım Ünitesinde Sık Görülen Enfeksiyonlar. *Düzce Tıp Fakültesi Derg.* 2008;40-43.
3. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Role of Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. *Int J Nephrol.* 2012;2012:1-15.
4. Klemm P, Christiansen G. Three fim genes required for the regulation of length and mediation of adhesion of *Escherichia coli* type 1 fimbriae. *Mol Gen Genet.* 1987;208(3):439-445.
5. Choudhury D, Thompson A, Stojanoff V, et al. X-ray structure of the FimC-FimH chaperone-adhesin complex from uropathogenic *Escherichia coli*. *Science.* 1999;285(5430):1061-1066.
6. Andreu A, Fernandez F, Xercavins M. Type 1 fimbriae, P fimbriae and X adhesins in *Escherichia* strains causing pyelonephritis, cystitis and recurrent urinary infections. *Med Clin (Barc).* 1989;92(11):409-412.
7. Hommais F, Gouriou S, Amarin C, et al. The FimH A27V mutation is pathoadaptive for urovirulence in *Escherichia coli* B2 phylogenetic group isolates. *Infect Immun.* 2003;71(6):3619-3622.
8. Weissman SJ, Moseley SL, Dykhuizen DE, Sokurenko E V. Enterobacterial adhesins and the case for studying SNPs in bacteria. *Trends Microbiol.* 2003;11(3):115-117.
9. Tartof SY, Solberg OD, Riley LW. Genotypic analyses of uropathogenic

- Escherichia coli based on fimH single nucleotide polymorphisms (SNPs). *J Med Microbiol.* 2007;56(10):1363-1369.
10. Procop GW, Ghurch D, Hall GS, et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostik Mikrobiyology 7th ed. In: 2017:80-81.
  11. Sobel J, Kaye D. Urinary Tract İnfections: Section D, Chapter 69; Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2010.
  12. Nicolle L, Anderson PAM, Conly J, et al. Uncomplicated urinary tract infection in women. Current practice and the effect of antibiotic resistance on empiric treatment. *Can Fam Physician.* 2006;52:612-618.
  13. Garcia LS, Isenberg HD. Clinical microbiology procedures handbook. In: 3rd ed. ; 2010:3.12.1.
  14. Özkan L, Ad Ü. Alt Üriner Sistem ve Genital Sistem Enfeksiyonlari. *Turkiye Klin J Urol Top.* 2010;3(3).
  15. Foxman B. Urinary Tract Infection Syndromes. *Infect Dis Clin North Am.* 2014;28(1):1-13.
  16. Franco AVM. Recurrent urinary tract infections. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2005;19(6):861-873.
  17. Nicolle LE, AMMI Canada Guidelines Committee\*. Complicated urinary tract infection in adults. *Can J Infect Dis Med Microbiol = J Can des Mal Infect la Microbiol medicale.* 2005;16(6):349-360.
  18. Inan D, Arman D, Leblebicioglu H. Üriner Sistem Enfeksiyonlarının Tedavisi. In: Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2003:9-14.
  19. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. In: Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri; 2010:1487-1501.
  20. Czaja CA, Scholes D, Hooton TM, Stamm WE. Population-Based Epidemiologic Analysis of Acute Pyelonephritis. *Clin Infect Dis.* 2007;45(3):273-280.

21. Paduch DA. Viral lower urinary tract infections. *Curr Urol Rep.* 2007;8(4):324-335.
22. Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C, et al. Adenovirus Is a Key Pathogen in Hemorrhagic Cystitis Associated with Bone Marrow Transplantation. *Clin Infect Dis.* 2001;32(9):1325-1330.
23. Norris DL, Young JD. Urinary Tract Infections: Diagnosis and Management in the Emergency Department. *Emerg Med Clin North Am.* 2008;26(2):413-430.
24. Hooton TM. Pathogenesis of urinary tract infections: an update. *J Antimicrob Chemother.* 2000;46 Suppl 1:1-7; discussion 63-5.
25. Measley RE, Levison ME. Host defense mechanisms in the pathogenesis of urinary tract infection. *Med Clin North Am.* 1991;75(2):275-286.
26. Hooton TM, Scholes D, Hughes JP, et al. A Prospective Study of Risk Factors for Symptomatic Urinary Tract Infection in Young Women. *N Engl J Med.* 1996;335(7):468-474.
27. Tanger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji. In: 3rd ed. İzmir: Asya Tıp Yayıncılık; 2003:100.
28. İnci O. Çocuk ve Eriskinlerde Ürogenital Enfeksiyonlar. In: Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri; 1996:34-35.
29. Rosdahl CB, Kowalski MT. Textbook of Basic Nursing. In: 10th ed. Wolters Kluwer; 2012:735.
30. Ponka D, Baddar F. Top 10 forgotten diagnostic procedures: suprapubic bladder aspiration. *Can Fam Physician.* 2013;59(1):50.
31. Marin JR, Shaikh N, Docimo SG, Hickey RW, Hoberman A. Suprapubic Bladder Aspiration. *N Engl J Med.* 2014;371(10):e13.
32. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in

- the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008;36(5):309-332.
33. Yıldız A. Tam idrar tahlilinin infeksiyon hastalıklarının tanı ve izlemine katkısı. *Ankem Derg*. 2005;19(Ek 2):85-86.
  34. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. In: 3rd ed. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 2002:279-381.
  35. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji. In: 6th ed. Pensilvanya: Elsevier Mosby; 2014:277-290.
  36. Üstün Ş, İlder T. Gastroenteroloji Kliniği İdrar Laboratuvarına Başvuran Hastalarda *T. vaginalis* Sıklığının Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Derg*. 2004;28(2):83-85.
  37. [http://2.bp.blogspot.com/\\_IgmDxAy-TC8/S69YGvjSKPI/AAAAAAAAABgI/IPz29YC9zA/s1600/streak.JPG](http://2.bp.blogspot.com/_IgmDxAy-TC8/S69YGvjSKPI/AAAAAAAAABgI/IPz29YC9zA/s1600/streak.JPG). Accessed September 13, 2018.
  38. <https://docplayer.biz.tr/9326451-Bakterilerin-uretilmesi-dr-banu-sancak.html>. Accessed September 13, 2018.
  39. Hooton TM, Bradley SF, Cardenas DD, et al. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2010;50(5):625-663.
  40. Vincent J-L, Rello J, Marshall J, et al. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *JAMA*. 2009;302(21):2323.
  41. Palabıyıkoglu İ. Yoğun Bakım Ünitesinde İnfeksiyon Patogenezi. *Yoğun Bakım Derg*. 2003:81-101.
  42. Tambyah PA, Maki DG. Catheter-associated urinary tract infection is rarely symptomatic: a prospective study of 1,497 catheterized patients. *Arch Intern Med*. 2000;160(5):678-682.
  43. Kauffman CA, Vazquez JA, Sobel JD, et al. Prospective Multicenter



- Surveillance Study of Funguria in Hospitalized Patients. *Clin Infect Dis*. 2000;30(1):14-18.
44. Baştürk S. Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa ve Acinetobacter baumannii suşlarında çeşitli kinolon grubu antibiyotiklerin duyarlılıklarının araştırılması. 2005.
  45. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. In: 1st ed. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999:472-485.
  46. Arslan S. Gastroenteritli hastalarda enterohemorajik Escherichia coli araştırılması. 1993.
  47. Cengiz AT, Mısırlıgil A, Aydın M. *Tıp VeDiş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 2004.
  48. Baron EJ, Peterson L, Finegold S. *Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology*. 9th ed. London: Elseiver Mosby; 1994.
  49. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. In: 10th ed. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 2000:3-17.
  50. MacConkey agarda E. coli.  
<https://www.istockphoto.com/tr/fotoğraf/escherichia-coli-gm698088184-129343177>. Accessed September 13, 2018.
  51. Kaşkatepe B. Üriner Sistem İnfeksiyonlarından İzole Edilen Escherichia coli'lerde Siprofloksasin ve Levofloksasin'in Subinhibitör Konsantrasyonlarına Karşı İn Vitro Direnç Gelişiminin Araştırılması. 2008.
  52. E. coli imvic. <https://tr.pinterest.com/pin/408349891193220511/?lp=true>. Accessed September 13, 2018.
  53. <https://slideplayer.com/slide/5316756/>. Accessed September 13, 2018.
  54. Brooks GE, Butel JS, Morse SA. *Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology*. 23rd ed. Boston: McGraw-Hill companies; 2004.

55. Erayman İ, Erayman B, Türk Arıbaş E. İdrar örneklerinden izole edilen Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg.* 2001;15(2):164.
56. Bilgehan H. *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi Kitabı*. 10th ed. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 2002.
57. Kara A. Üriner İnfeksiyonlarda Etken Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıklarındaki Değişiklikler. 2007.
58. Grace C. Medical Magement of Infectious Disease. In: 1st ed. CRC Press; 2003:289-291.
59. Abraham JM, Freitag CS, Clements JR, Eisenstein BI. An invertible element of DNA controls phase variation of type 1 fimbriae of Escherichia coli. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82(17):5724-5727.
60. N. <http://www.ecl-lab.com/en/ecoli/index.asp>. Accessed September 13, 2018.
61. Tunçkanat F. Üriner sistem infeksiyonu patogeneğinde bakteriyel virulans faktörleri. *Klinik Derg.* 1993;6:3-5.
62. Demir M. Patogen Escherichia coli suşlarında siderofor ve diğer virulans faktörlerinin araştırılması ve patojenitedeki rollerinin cilt infeksiyon modeliyle gösterilmesi. 2001.
63. Debeleş B, Coşar G. EGE VE AKDENİZ BÖLGESİ'NDE ÜROPATOJEN ESCHERICHIA COLI KÖKENLERİNİN FLOROKİNOLONLARA DUYARLILIĞI. *İnfeksiyon Derg (Turkish J Infect.* 2007;21(1):15-21.
64. Johnson JR, Owens K, Gajewski A, Kuskowski MA. Bacterial Characteristics in Relation to Clinical Source of Escherichia coli Isolates from Women with Acute Cystitis or Pyelonephritis and Uninfected Women. *J Clin Microbiol.* 2005;43(12):6064-6072.
65. da Costa MM, Drescher G, Maboni F, et al. Virulence factors and antimicrobial resistance of escherichia coli isolated from urinary tract of swine in southern of Brazil. *Braz J Microbiol.* 2008;39(4):741-743.

66. Roberts JA, Marklund BI, Ilver D, et al. The Gal(alpha 1-4)Gal-specific tip adhesin of Escherichia coli P-fimbriae is needed for pyelonephritis to occur in the normal urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(25):11889-11893.
67. Ruhi MZ, Özenci H, Ataoğlu H, Aysev D. Üriner Sistem Enfeksiyonu Bulunan Çocukların İdrarlarında İzole Edilen Escherichia coli Suşlarının Virulans Faktörleri ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg*. 2000;30:85-92.
68. Fidan I, Yüksel S, Sipahi AB, Özkan S, Sultan N. Üriner sistem infeksiyonlarından etken olarak izole edilen Escherichia coli suşlarında hemaglutinasyon ve hemolizin üretimi. *Ankem Derg*. 2006;20(1):22-25.
69. Demir M, Kaleli İ, Cevahir N. Siprofloksasinin sub-minimal inhibitör konsantrasyonlarının Escherichia coli suşlarının hemaglutinasyon özellikleri üzerine etkisinin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy*. 2007;37(4):192-195.
70. Aksu E. Behçet Hastalarında ve Sağlıklı Bireylerde Üroepitel Hücrelerin Streptococcus pyogenes ve Escherichia coli'ye Karşı Bakterisidal Etkisinin Araştırılması. 2010.
71. Connell I, Agace W, Klemm P, Schembri M, Märild S, Svanborg C. Type 1 fimbrial expression enhances Escherichia coli virulence for the urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(18):9827-9832.
72. Wu XR, Sun TT, Medina JJ. In vitro binding of type 1-fimbriated Escherichia coli to uroplakins Ia and Ib: relation to urinary tract infections. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(18):9630-9635.
73. Sokurenko E V, Chesnokova V, Dykhuizen DE, et al. Pathogenic adaptation of Escherichia coli by natural variation of the FimH adhesin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(15):8922-8926.
74. Pinkner JS, Remaut H, Buelens F, et al. Rationally designed small compounds inhibit pilus biogenesis in uropathogenic bacteria. *Proc Natl Acad Sci*. 2006;103(47):17897-17902.

75. Arslan Aİ. İdrar Yolları Enfeksiyonu Etkeni E. coli'lerin Adezinleri İle Antibiyotik Direnci Arasındaki İlişkinin Klasik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. 2010.
76. Karabiber N, Türet S. Üriner ve fekal kaynaklı Escherichia coli suşlarında mannoz rezistan hemagglütinasyon (MRHA), tip 1 fimbriya ve hemoliz yapma özelliklerinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 1992;26:12-16.
77. Jones CH, Pinkner JS, Roth R, et al. FimH adhesin of type 1 pili is assembled into a fibrillar tip structure in the Enterobacteriaceae. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(6):2081-2085.
78. Mulvey MA, Schilling JD, Martinez JJ, Hultgren SJ. Bad bugs and beleaguered bladders: interplay between uropathogenic Escherichia coli and innate host defenses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(16):8829-8835.
79. Cantekin Z. Kanatlı Orijinli Escherichia coli Suşlarının Virulans Özelliklerinin Fenotipik ve Moleküler Metotlarla Belirlenmesi. 2008.
80. Emody L, Kerényi M, Nagy G. Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli. *Int J Antimicrob Agents.* 2003;22 Suppl 2:29-33.
81. Stapleton A. Novel Mechanism of P-Fimbriated Escherichia coli Virulence in Pyelonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:3458-3460.
82. Zhang L, Foxman B. Molecular epidemiology of Escherichia coli mediated urinary tract infections. *Front Biosci.* 2003;8:e235-44.
83. Balagué C, Fernández L, Pérez J, Grau R. Effect of ciprofloxacin on adhesive properties of non-P mannose-resistant uropathogenic Escherichia coli isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51(2):401-404.
84. mannoz duyarlı hemagglütinasyon.  
[https://www.tcd.ie/Biology\\_Teaching\\_Centre/assets/pdf/by2205/by2205-webgalleries2011/by2205-gallery2/bacterial\\_fimbriae\\_adherence.pdf](https://www.tcd.ie/Biology_Teaching_Centre/assets/pdf/by2205/by2205-webgalleries2011/by2205-gallery2/bacterial_fimbriae_adherence.pdf). Accessed September 18, 2018.

85. Balaban N. Control of Biofilm Infections by Signal Manipulation. In: Berlin: Springer; 2008:79-108.
86. Lewis K. Riddle of Biofilm Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(4):999-1007. doi:10.1128/AAC.45.4.999-1007.2001
87. Gün İ, Ekinci F. Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *Gıda.* 2009;34(3):165-173.
88. Cicalini S, Palmieri F, Petrosillo N. Clinical review: new technologies for prevention of intravascular catheter-related infections. *Crit Care.* 2003;8(3):157.
89. Biofilm oluşumu. [http://www.pinsdaddy.com/dense-biofilm-formation\\_WzRUeJhNu8NRLQRaFhvk4f7KJyzBVKwumbQUovfBGzA/](http://www.pinsdaddy.com/dense-biofilm-formation_WzRUeJhNu8NRLQRaFhvk4f7KJyzBVKwumbQUovfBGzA/). Accessed September 13, 2018.
90. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis.* 7(2):277-281.
91. kataterde biofilm. <https://www.dreamstime.com/stock-photos-biofilm-formation-catheter-image25261633>. Accessed September 13,2018.
92. Pantanella F, Valenti P, Frioni A, Natalizi T, Coltella L, Berlutti F. BioTimer Assay, a new method for counting Staphylococcus spp. in biofilm without sample manipulation applied to evaluate antibiotic susceptibility of biofilm. *J Microbiol Methods.* 2008;75(3):478-484.
93. Küçükbaşmacı Ö, Büyükbaba-Boral Ö, Öğüt T, Susever S, Anđ-Küçüker M, Anđ Ö. Escherichia coli suşlarında çeşitli antibiyotiklere direncin hemolizin üretimi ve tipleri ile ilişkisi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg.* 2003;33(3):211-213.
94. Levinson W. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. In: 9th ed. İstanbul: GüneşTıp Kitabevleri; 2008.
95. Urdoğan İnan N, Gürler N. İdrar yolu infeksiyonu olan çocuklardan izole

- edilen *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci ve çeşitli virulans faktörlerinin araştırılması. *ANKEM Derg.* 2004;18(2):89-96.
96. Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev.* 1991;4(1):80-128.
97. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HLT, Shirtliff ME. Complicated Catheter-Associated Urinary Tract Infections Due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(1):26-59.
98. Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol.* 2008;85(1):11-19.
99. Erdoğan F. Çocukluk çağında üriner sistem infeksiyonları ve eşlik eden hastalıklar. 2005.
100. Vagarali MA, Karadesai SG, Patil CS, Metgud SC, Mutnal MB. Haemagglutination and siderophore production as the urovirulence markers of uropathogenic *Escherichia coli*. *Indian J Med Microbiol.* 26(1):68-70.
101. Arda M. Temel Mikrobiyoloji. In: 4th ed. Ankara: Medisan Yayın; 2011.
102. Gülhan T, İlhan Z, Aksakal A, Solmaz H, Ekin İH. Hayvan orijinli *Escherichia coli* suşlarının enterotoksin tiplerinin (LT, ST) belirlenmesi. *YYU Vet Fak Derg.* 2009;20(2):27-31.
103. Gülhan T. *Sağlıklı Görünen Hayvanların Dışkılarından İzole Edilen Escherichia Coli Suşlarının Biyokimyasal, Enterotoksijenik ve Verotoksijenik Özelliklerinin Belirlenmesi.* Vol 14.; 2003.
104. Strohl WA, Rouse H, Lippincott F. Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology. In: Baltimore: Williams & Wilkins; 2001.
105. Uzun Ö, Ünal S. Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları. In: Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2001:481-493.
106. Sokurenko E V, Chesnokova V, Dykhuizen DE, et al. Pathogenic adaptation of *Escherichia coli* by natural variation of the FimH adhesin. *Proc Natl Acad*

- Sci U S A*. 1998;95(15):8922-8926.
107. Zhou G, Mo WJ, Sebbel P, et al. Uroplakin Ia is the urothelial receptor for uropathogenic *Escherichia coli*: evidence from in vitro FimH binding. *J Cell Sci*. 2001;114(Pt 22):4095-4103.
  108. Asadi KM, Oloomi M, Habibi M, Bouzari S. Cloning of fimH and fliC and expression of the fusion protein FimH/FliC from Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolated in Iran. *Iran J Microbiol*. 2012;4(2):55-62.
  109. Chen SL, Hung CS, Pinkner JS, et al. Positive selection identifies an in vivo role for FimH during urinary tract infection in addition to mannose binding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(52):22439-22444.
  110. Dhakal BK, Kulesus RR, Mulvey MA. Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*. *Eur J Clin Invest*. 2008;38:2-11.
  111. Schembri MA, Sokurenko E V, Klemm P. Functional flexibility of the FimH adhesin: insights from a random mutant library. *Infect Immun*. 2000;68(5):2638-2646.
  112. [https://www.researchgate.net/figure/Representations-of-type-1-fimbriae-A-Electron-micrograph-of-fimbriae-on-E-coli-38\\_fig1\\_233732126](https://www.researchgate.net/figure/Representations-of-type-1-fimbriae-A-Electron-micrograph-of-fimbriae-on-E-coli-38_fig1_233732126). Accessed September 13,2018.
  113. [https://www.researchgate.net/figure/Adhesion-of-type-1-fimbriated-E-coli-cells-is-mediated-by-the-fimbrial-protein-FimH\\_fig5\\_309361632](https://www.researchgate.net/figure/Adhesion-of-type-1-fimbriated-E-coli-cells-is-mediated-by-the-fimbrial-protein-FimH_fig5_309361632). Accessed September 13,2018.
  114. During the colonisation period FimH adhesins bind to umbrella cells via... | Download Scientific Diagram. [https://www.researchgate.net/figure/During-the-colonisation-period-FimH-adhesins-bind-to-umbrella-cells-via-uroplakin-1a-and\\_fig4\\_221915836](https://www.researchgate.net/figure/During-the-colonisation-period-FimH-adhesins-bind-to-umbrella-cells-via-uroplakin-1a-and_fig4_221915836). Accessed September 25, 2018.
  115. IBC oluşumu. <https://www.nature.com/articles/nmicrobiol2016256/figures/1>. Accessed September 13,2018.

116. Sokurenko E V, Courtney HS, Maslow J, Siitonen A, Hasty DL. Quantitative differences in adhesiveness of type 1 fimbriated *Escherichia coli* due to structural differences in *fimH* genes. *J Bacteriol.* 1995;177(13):3680-3686.
117. Minardi D, d'Anzeo G, Cantoro D, Conti A, Muzzonigro G. Urinary tract infections in women: etiology and treatment options. *Int J Gen Med.* 2011;4:333.
118. Ronald A. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am J Med.* 2002;113 Suppl 1A:14S-19S.
119. Dadashi M, Eslami G, Goudarzi H, et al. Antibacterial Effects of Citrus aurantium on Bacteria Isolated from Urinary Tract Infection. *Res Mol Med.* 2015;3(4):47-50.
120. Barber AE, Norton JP, Spivak AM, Mulvey MA. Urinary Tract Infections: Current and Emerging Management Strategies. *Clin Infect Dis.* 2013;57(5):719-724.
121. Mulvey MA. Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiol.* 2002;4(5):257-271.
122. Asadi S, Kargar M, Solhjoo K, Najafi A, Ghorbani-Dalini S. The Association of Virulence Determinants of Uropathogenic *Escherichia coli* With Antibiotic Resistance. *Jundishapur J Microbiol.* 2014;7(5):e9936.
123. Kudinha T, Kong F, Johnson JR, Andrew SD, Anderson P, Gilbert GL. Multiplex PCR-Based Reverse Line Blot Assay for Simultaneous Detection of 22 Virulence Genes in Uropathogenic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(4):1198-1202.
124. Dielubanza EJ, Schaeffer AJ. Urinary Tract Infections in Women. *Med Clin North Am.* 2011;95(1):27-41.
125. Hojati Z, Zamanzad B, Hashemzadeh M, Molaie R, Gholipour A. The *FimH* Gene in Uropathogenic *Escherichia coli* Strains Isolated From Patients With Urinary Tract Infection. *Jundishapur J Microbiol.* 2015;8(2):e17520.



126. Usein CR, Damian M, Tatu-Chitoiu D, et al. Prevalence of virulence genes in Escherichia coli strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. *J Cell Mol Med.* 5(3):303-310.
127. Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. Distribution of uropathogenic virulence genes in Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection. *Int J Infect Dis.* 2013;17(6):e450-e453.
128. Morin PA, Luikart G, Wayne RK, the SNP workshop group. SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends Ecol Evol.* 2004;19(4):208-216.
129. Altshuler D, Daly MJ, Lander ES. Genetic Mapping in Human Disease. *Science (80- ).* 2008;322(5903):881-888.
130. Taylor JG, Choi EH, Foster CB, Chanock SJ. Using genetic variation to study human disease. *Trends Mol Med.* 2001;7(11):507-512.
131. Hawn TR, Scholes D, Li SS, et al. Toll-Like Receptor Polymorphisms and Susceptibility to Urinary Tract Infections in Adult Women. Tailleux L, ed. *PLoS One.* 2009;4(6):e5990.
132. Hawn TR, Scholes D, Wang H, et al. Genetic Variation of the Human Urinary Tract Innate Immune Response and Asymptomatic Bacteriuria in Women. Unutmaz D, ed. *PLoS One.* 2009;4(12):e8300.
133. Abdi HA, Rashki ; Ahmad, Rashki A. Comparison of Virulence Factors Distribution in Uropathogenic E. coli Isolates From Phylogenetic Groups B2 and D. *Int J Enteric Pathog.* 2014;2(4):21725.
134. Dias RCS, Moreira BM, Riley LW. Use of fimH Single-Nucleotide Polymorphisms for Strain Typing of Clinical Isolates of Escherichia coli for Epidemiologic Investigation. *J Clin Microbiol.* 2010;48(2):483-488.
135. Abdallah KS, Cao Y, Wei D-J. Epidemiologic Investigation of Extra-intestinal pathogenic E. coli (ExPEC) based on PCR phylogenetic group and fimH single nucleotide polymorphisms (SNPs) in China. *Int J Mol Epidemiol Genet.* 2011;2(4):339-353.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

Sema KOÇYİĞİT KALCAN, 14.04.1989 tarihinde Samsun'un Çarşamba ilçesinde doğdu. İlköğrenimini 1994-2002 yıllarında Çarşamba Atatürk İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Lise eğitimini 2002-2005 yılları arasında Trabzon Yomra Fen Lisesi'nde tamamladı. 2012 yılında 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldu. Kısa bir süre Ağrı Eleşkirt Devlet Hastanesi'nde pratisyen hekim olarak çalıştı. 2013 yılının Temmuz ayında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda tıpta uzmanlık eğitimine başladı ve halen devam etmektedir. Orta düzeyde İngilizce bilmektedir. Evli ve bir çocuk annesidir.