

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANA BİLİM DALI



**YABANİ KUŞLARDAN İZOLE EDİLEN *ESHERİCHİA COLI*
İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DİRENÇ
PATTERNLERİNİN VE GENOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Nejash Abdela AHMED

Danışman

Prof. Dr. Timur GÜLHAN

Bu tez çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO VET. 1904.21.024 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Nejash Abdela AHMED tarafından, Prof. Dr. Timur GÜLHAN danışmanlığında hazırlanan “YABANİ KUŞLARDAN İZOLE EDİLEN *ESHERİCHİA COLİ* İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DİRENÇ PATTERNLERİNİN VE GENOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 4.7.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Timur GÜLHAN		☒
	Ondokuz Mayıs Üniversitesi		Kabul
	Veterinerlik Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalı		☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ		☒
	Ondokuz Mayıs Üniversitesi		Kabul
	Veterinerlik Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalı		☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Serap SAVAŞAN		☒
	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi		Kabul
	Veterinerlik Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalı		☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

İmza

... / ... / 20...

Nejash Abdela AHMED

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: YABANI KUŞLARDAN İZOLE EDİLEN *ESHERİCHIA COLI* İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DİRENÇ PATTERNLERİNİN VE GENOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 07. 06. 2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 4

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

İmza

... / ... / 20...

Prof. Dr. Timur GÜLHAN

ÖZET

YABANI KUŞLARDAN İZOLE EDİLEN *ESHERİCHİA COLİ* İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DİRENÇ PATTERNLERİNİN VE GENOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ

Nejash Abdela AHMED
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Veterinerlik Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Temmuz/2022
Danışman: Prof. Dr. Timur GÜLHAN

Çağımızın artan küresel halk sağlığı tehditlerinden biri olan antibiyotik direncinin potansiyel olumsuz etkisini önlemek, direnç genlerinin rezervuarı dâhil olmak üzere direnç durumlarının düzenli olarak izlenmesini gerektirmektedir. Antibiyotik direncinin olası bir biyolojik göstergesi olan yabani kuşların, antimikrobiyal dirençli bakterilerin yayılmasında rol oynadıkları öne sürülmüştür. Bu tez çalışması martı (*Larus armenicus*) ve güvercin (*Columba livia*) kökenli 100 *Escherichia coli* izolatının Kirby-Bauer disk difüzyon metodu kullanılarak fenotipik antibiyotik direnç profili ve dirence sebep olan genlerin PCR ile moleküler araştırılması amacıyla yapıldı. Ayrıca izolatların genetik yakınlıkları RAPD-PCR ile belirlendi. Fenotipik antibiyotik duyarlılık testi sonucunda, izolatların %63'ünün (63/100) en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu ve %29'unda (29/100) ise çoklu antibiyotik direnci olduğu tespit edildi. İzolatların tamamının sefalotine duyarlı olduğu, tetrasiklin (%52), kanamisin (%38), streptomisin (%37), ampicilin (%28), kloramfenikol (%21), trimetoprim/sulfametoksazol (%19), gentamisin (%13), enrofloksasin (%12) ve siprofloksasine (%12) dirençli olduğu belirlendi. İzolatların %66'sının *tet(B)*, %63'ünün *tet(A)*, %48'inin *aphA1*, %34'ünün *sul3*, %26'sının *sul2*, %24'ünün *strA/strB* ve %16'sının ise *sul1* genlerine sahip olduğu belirlendi. Ayrıca izolatların *tet(C)*, *qnr(A)*, *qnr(B)*, *qnr(s)*, *aphA2*, *aadB* ve *aac(3)* IV genlerine sahip olmadığı tespit edildi. İzolatların genetik çeşitliliği ile ilgili olarak, RAPD-PCR tabanlı dendrogramlar hem güvercin ve hem de martı kökenli izolatları %70 benzerlik eşik değeri temelinde 5 kümeye ayrıldı. Dendrogramın sonucunda, güvercin orijinli *E.coli* suşlarının %47-100, martı orijinli suşların ise %40-100 oranında benzerlik gösterdiği belirlendi. Tez çalışması sonucunda, martı ve güvercinlerin genetik olarak benzerliği olan aynı zamanda çeşitli antibiyotiklere dirençli *E. coli* izolatlarını taşıdıkları ve dışkıları ile çevreyi kontamine ederek insan ve hayvan sağlığı için risk oluşturabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yabani kuşlar, çevre, insan ve diğer konaklar arasındaki olası bulaşma paternlerinin belirlenmesi için “tek sağlık yaklaşımı” açısından izolatların genetik yakınlarının araştırıldığı büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Antibiyotik direnci, *E. coli*, Güvercin, Martı, RAPD-PCR

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE PATTERNS AND GENOTYPES OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATES ISOLATED FROM WILD BIRDS

Nejash Abdela AHMED
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Veterinary Microbiology
Master, July/2022
Supervisor: Prof. Dr. Timur GÜLHAN

Curbing the potential negative impact of antibiotic resistance, one of our era's growing global public health crises, requires regular monitoring of the resistance situations, including the reservoir of resistance genes. Wild birds, a possible bioindicator of antibiotic resistance, have been suggested to play a role in the dissemination of antimicrobial-resistant bacteria. Therefore, this study was conducted with the objective of determining phenotypic antibiotic resistance profile and antibiotic resistance genes in 100 *Escherichia coli* isolates of gull (*Larus armenicus*) and pigeon (*Columba livia*) origin by using the Kirby-Bauer disc diffusion method and PCR, respectively. Furthermore, the genetic relationships of the isolates were determined by RAPD-PCR. Phenotypic antibiotic susceptibility testing revealed that 63% (63/100) of *E. coli* isolates were resistant to at least one antibiotic and 29 % (29/100) were multi-drug resistant (MDR). With the exception of cephalothin, to which the *E. coli* isolates were 100% susceptible, tetracycline (52%), kanamycin (38%), streptomycin (37%), ampicillin (28%), chloramphenicol (21%), trimethoprim/sulfamethoxazole (19%), gentamicin (13%), enrofloxacin (12%) and ciprofloxacin (12%) resistances were detected at varying degrees. Among the investigated antibiotic resistance genes, *tet(B)* (66%), *tet(A)* (63%), *aphA1* (48%), *sul3* (34%), *sul2* (26%), *strA/strB* (24%) and *sul1* (16%) were frequently detected. However, *tet(C)*, *qnr(A)*, *qnr(B)*, *qnr(s)*, *aphA2*, *aadB* and *aac(3) IV* genes were not detected in any of the isolates. Regarding the genetic diversity of the isolates, the RAPD-PCR-based dendrograms divided both pigeon and gull isolates into five different clusters based on a 70% similarity threshold. Dendrogram analysis revealed 47-100% similarities among pigeon-origin strains and 40-100% similarities among gull-origin *E.coli* strains. In general, this study revealed that gulls and pigeons carry genetically related *E. coli* isolates that are resistant to various antibiotics, and thus may pose a risk to human and animal health by contaminating the environment with their feces. However, a large-scale epidemiological study investigating the genetic relationship of the strains from a "one health" point of view is warranted to determine the possible transmission patterns between wild birds, the environment, humans, and other hosts.

Keywords: Antibiotic resistance, *E. coli*, Pigeon, Gull, RAPD-PCR

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Her şeyden önce, ilerlemenin yolunu yönlendiren ve karşılaştığım her zorluğu paylaştığım saygıdeğer danışmanım ve hocam Prof. Dr. Timur GÜLHAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Değerli danışmanım, beni olumlu yönde şekillendiren, sürekli bilimsel rehberliğinizin yani sıra asla unutulmayan cesaretlendirmeniz ve dostane yaklaşımınız için teşekkür ederim. Ardından, tez aşamasında doğrudan veya dolaylı olarak etkileşimde bulunduğum Veterinerlik Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalındaki tüm hocalarıma özellikle kıymetli bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ ve Araş. Gör. Merve Gizem SEZENER'e teşekkür ederim. Ayrıca, Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalındaki Doktora ve Yüksek Lisans öğrencilerine en içten teşekkürlerimi sunarım. Bana yüksek lisans eğitimimi Türkiye'de yapma fırsatı sağlayan Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı'na (YTB) ve çalışma iznini veren Daro Labu Hayvancılık Kaynak Geliştirme Müdürlüğü'ne da teşekkür ederim. Son olarak, PYO VET. 1904.21.024 numaralı proje kapsamında bu çalışmaya destek veren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na ve *qnr* genlerinin pozitif kontrollerini bize sağlayan Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Nejash Abdela AHMED

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yabani Kuşlar ve Mikroorganizma.....	3
2.2. <i>Escherichia coli</i> Hakkında Genel Bilgiler	5
2.2.1. Etiyoloji ve klasifikasyon.....	5
2.2.2. Virülens Faktörleri	7
2.2.3. Ana Enfeksiyonlar ve Epidemiyolojisi	7
2.2.4. Yabani Kuşlarda <i>E. coli</i> 'nin Küresel ve Türkiye'deki Durumu.....	10
2.2.5. Halk ve Hayvan Sağlığında Önemi.....	15
2.2.5.1. Halk Sağlığı Açısından Önemi	15
2.2.5.2. Hayvan Sağlığında Önemi	16
2.3. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları	17
2.3.1. Hücre Duvarı Sentezinin İnhibisyonu.....	19
2.3.2. Protein Sentezinin İnhibisyonu	19
2.3.3. Nükleik Asit Sentezinin İnhibisyonu	20
2.3.4. Folik Asit Metabolizmasının İnhibisyonu.....	21
2.3.5. Hücre Membran Fonksiyonunun İnhibisyonu	21
2.4. Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları	21
2.4.1. Enzim İnaktivasyonu veya Modifikasyonu.....	22
2.4.2. Permeabilitenin Azaltılması	24
2.4.3. Aktif Dışa Atım (Effluks Pompası)	24
2.4.4. Antibiyotik Hedefindeki Değişiklik.....	25
2.5. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	25
2.6. Moleküler Tiplendirme Yöntemleri	27
2.7. Yabani Kuşlarda Antibiyotik Direncinin Mevcut Durumu.....	28
2.7.1. Genel Direnç Durumu	28
2.7.2. Direnç Genlerin Durumu	30
3. MATERYAL VE METOT.....	33
3.1. Bakteri İzolatları ve Çalışmada İzlenen Genel Adımlar	33
3.2. DNA Ekstraksiyonu	34
3.3. <i>E. coli</i> 'nin Genotipik Doğrulaması.....	34
3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	35
3.5. Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi.....	36
3.6. RAPD-PCR ile İzolatlarının Genotiplendirilmesi.....	38
3.7. İstatistiksel Analizler	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. <i>E. coli</i> için Genotipik Doğrulama	40
4.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	40
4.3. Antibiyotik Direnç Genleri	43
4.4. Fenotipik ve Genotipik Direnç Profili Arasındaki İlişki.....	46
4.5. RAPD-PCR ile İzolatlarının Genotiplendirilmesi.....	47
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59

KAYNAKLAR	60
ÖZ GEÇMİŞ	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAC	: Aminoglikozit N-asetiltransferaz
ADT	: Antibiyotik Duyarlılık Testi
AME	: Aminoglikozit Modifiye Edici Enzimler
ANT	: Aminoglikozit O-nükleotidiltransferaz
APEC	: Avian Patojenik <i>Escherichia coli</i>
APH	: Aminoglikozit O- fosfotransferazlar
ÇİD	: Çoklu İlaça Dirençli
DAEC	: Diffuz Aderent <i>E. coli</i>
EHEC	: Enterohemorojik <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EMB	: Eosine Methylene Blue Agar
EPEC	: Entero patojenik <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
ExPEC	: Ektraintestinal Patojenik <i>E. coli</i>
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz
iss:	: Artmış serum süresi
mPCR	: Multipleks Polimeraz Zincir (Chain) Reaksiyonu
NMEC	: Neonatal Meningitis <i>E. coli</i>
PAKD	: Plazmit Aracılı Kinolon Direnci
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Protein
PCR	: Polimeraz Chain Reaksiyonu
PFGE	: Pulsed-Field Gel Electrophoresis
RAPD	: Random Amplification of Polymorphic DNA
ST	: Sekans Tipi
STEC	: Shiga Toksin Üreten <i>E. coli</i>
Stx	: Shiga Toksin
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSH	: Sıcaklık Duyarlı Hemagglutinin
UPEC	: Üro Patojenik <i>E. coli</i>
VTEC	: Vero-Toksijenik <i>E. coli</i>

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Şehir ve sahil alanlarında serbest yaşayan güvercin ve martıların yaygınlığı	4
Şekil 2.2. Bazı patojenik <i>E. coli</i> patotipleri	6
Şekil 2.3. Antibiyotiklerin başlıca hedefleri	18
Şekil 3.1. İzolatların canlandırılması ve karakterizasyonunda izlenen genel adımları gösteren akış şeması	33
Şekil 3.2. <i>E. coli</i> 'nin MacConkey Agar ve EMB besi yerindeki koloni görüntüsü	34
Şekil 4.1. <i>E. coli</i> 'nin moleküler doğrulaması	40
Şekil 4.2. Martı ve güvercinlerden elde edilen <i>E. coli</i> izolatlarının genel fenotipik antibiyotik duyarlılık profilleri	41
Şekil 4.3. Disk difüzyon tabanlı fenotipik antibiyotik duyarlılık test sonuçları	41
Şekil 4.4. Yabani kuş türlerine göre <i>E. coli</i> antibiyotik direnç profili	42
Şekil 4.5. Martı ve güvercinlerden elde edilen <i>E. coli</i> izolatlarının ≥ 2 antibiyotik etkenine direnç profili	43
Şekil 4.6. Martı ve güvercin kaynaklı <i>E. coli</i> izolatlarının genotipik antibiyotik direnç profili	44
Şekil 4.7. Sülfonamid direncine neden olan <i>sul1</i> (433 bp), <i>sul2</i> (721 bp) ve <i>sul3</i> (244 bp) genlerinin mPCR ile belirlenmesi.....	45
Şekil 4.8. Simpleks PCR kullanılarak tespit edilen tetrasiklin <i>tet (A)</i> direnç geni.....	45
Şekil 4.9. Simpleks PCR kullanılarak tespit edilen tetrasiklin <i>tet (B)</i> direnç geni.....	45
Şekil 4.10. Kanamisin direncine neden olan <i>aphA1</i> geninin PCR ile belirlenmesi	46
Şekil 4.11. Kinolon direncine neden olan <i>qnrA</i> (580 bp), <i>qnrB</i> (264 bp) ve <i>qnrS</i> (428 bp) genlerinin PCR ile belirlenmesi.....	46
Şekil 4.12. Güvercin izolatu <i>E. coli</i> suşlarının RAPD-PCR görüntüsü	48
Şekil 4.13. Martı kökenli <i>E. coli</i> suşlarının RAPD-PCR görüntüsü	48
Şekil 4.14. Güvercin izolatu <i>E. coli</i> suşlarının izolatlarının filogenetik analizi	48
Şekil 4.15. Martı izolatu <i>E. coli</i> suşlarının izolatlarının filogenetik analizi	49

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Yabani kanatlılardan izole edilen <i>E. coli</i> özellikleri ve günümüzdeki durumu	12
Tablo 3.1. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde kullanılan PCR bileşenlerinin konsantrasyonu	37
Tablo 3.2. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler ve PCR koşulları	37
Tablo 4.1. Martı ve güvercin kökenli <i>E. coli</i> izolatlarının fenotipik antibiyotik direnç profili	42
Tablo 4.2. Antibiyotik direnç genlerine sahip <i>E. coli</i> izolatlarını taşıma açısından martı ve güvercinlerin karşılaştırılması	44
Tablo 4.3. Martı ve güvercin orijinli <i>E. coli</i> izolatlarının fenotipik ve genotipik antibiyotik direnç profilleri arasındaki ilişki.....	47

1. GİRİŞ

Yabani kuşlar da dâhil olmak üzere yabani hayvanlar, dünyadaki normal ekosistemin devamlılığında önemli rol oynayan ekosistemimizin biyolojik çeşitliliğinin bir parçası olarak kabul edilmektedir. Enfeksiyon taşıyıcısı olarak olası epidemiyolojik rollerinin değerlendirilmesi, ekosistem sağlık durumunun yanı sıra insanlar dâhil diğer konakları etkileyebilecek hastalıkların değerlendirilmesine katkıda bulunmaktadır (Gargiulo vd., 2018). Yapılan son araştırmalar, yabani kanatlıların çiftlik hayvanları ve insan sağlığını etkileyebilen patojenik mikroorganizmaların rezervuarları olduğunu göstermiştir (Dipineto vd., 2014; Gargiulo vd., 2018; Islam vd., 2021a). Bu durum, yabani kuşlar tarafından taşınan hastalıkların diğer potansiyel konakların sağlığını da olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir (Chung vd., 2018; Gülhan vd., 2012). Yabani kuşlarla ilişkilendirilen enfeksiyonlar arasında *E. coli*, *Kamplobakter* ve *Salmonella* en sık bildirilen bakteriyel patojenlerdir (Chung vd., 2018). Bu patojenler zoonotik açıdan da önemli bakteriyel patojenler arasında bulunmaktadır (EFSA ve ECDC, 2021).

E. coli kanatlılar da dâhil olmak üzere hayvanların ve insanların bağırsaklarında kommensal patojen olmasına rağmen, önemli enfeksiyonlardan sorumlu olduğu için insan ve hayvan patojenleri arasında yer almaktadır (Allocati vd., 2013). Bununla beraber, etken çevresel kontaminantlar arasında önemli bir bakteridir ve çevresel kirlenmenin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Radhouani vd., 2012; Radimersky vd., 2010). *E. coli* diğer bakterilerden direnç genlerini kazanabilmekte ve direnç genlerini diğer bakterilere de aktarabilmektedir (Poirel vd., 2018). Bu nedenle etken hem veteriner hekimlikte hem de insan sağlığında antibiyotik direnci oluşumunun tespit edilmesi için model bakteri olarak kullanılmaktadır (Radimersky vd., 2010).

Günümüzde antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalar hem halk sağlığı hem de veterinerlik sektörünün en büyük sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir (OIE, 2019; WHO, 2019). Antibiyotik direnci bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik seçimini sınırlayarak her iki sektörü de önemli ölçüde etkileyebilmektedir (Magiorakos vd., 2012). Bu durumu kötüleştiren önemli bir faktör de bilinçsiz antibiyotik kullanımıdır (Pulingam vd., 2022). Yabani kuşlar antibiyotik ajanlarla yaygın olarak temas etmemelerine rağmen, kontamine çevre ile temas (kontamine su/gıda) sonucunda dirençli bakteriler tarafından enfekte olabilmektedirler (Borges vd., 2017a; Fashae vd., 2021). Bu argümanı destekleyen moleküler çalışmalar,

çöplükler, atık sular, yabani kuşlar ve insanlardan elde edilen antibiyotiğe dirençli *E. coli* suşlarının genetik yakınlığını bildirilmektedir (Ahlstrom vd., 2019; Bonnedahl vd., 2009; Varela vd., 2015).

Diğer yandan yabani kuş orijinli *E. coli* izolatlarının direnç mekanizmasının belirlenmesinde önemli rolü olan direnç genlerinin belirlenmesine yönelik yapılan güncel çalışmalar (Hleba vd., 2020; Merkevicene vd., 2018; Yuan vd., 2021), kuşların çeşitli direnç genlerine sahip *E. coli* suşlarının taşıyıcısı olduğunu göstermiştir. Bu durum, çevrede insan veya hayvan kaynaklı dirençli bakterilerin yaygınlığını göstermektedir (Plaza-Rodríguez vd., 2021). Antibiyotiklere dirençli olan *E. coli*'nin yabani kanatlılarca taşınması ve dolayısıyla bu patojenin evcil hayvanlara bulaşmasında rezervuar niteliğinde olmaları ve ayrıca halk sağlığını tehdit eden çevresel kontaminasyona neden olabilecekleri bildirilmektedir (Bonnedahl vd., 2009; Gargiulo vd., 2018).

Genel olarak yabani kanatlılar, çoklu antibiyotik direncine sahip *E. coli* patotiplerinin olası taşıyıcıları/rezervuarları olduğu çok sayıda çalışmada (Borges vd., 2017a; Islam vd., 2021a; Russo vd., 2021; Skarzyńska vd., 2021; Velhner vd., 2021) belirlenmiş olmasına rağmen, gelişmekte olan ülkelerdeki verilerin sınırlı olması nedeniyle durum net olarak bilinmemektedir. Türkiye'de yabani kuşlarda *E. coli* izolasyon ve antibiyotik duyarlılık çalışmaları (Gülhan vd., 2003, 2012; Yapicier vd., 2022) olmakla birlikte yabani kuş popülasyonlarındaki antibiyotik direnç paternleri ve direnç genlerinin dağılımı henüz net olarak tespit edilmemiştir. Ancak artan antibiyotik direnci sorununu ele almak, direnç genlerinin potansiyel kaynaklarının ve vektörlerinin ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasını gerektirmektedir (Zhao vd., 2020). Yabani kuşlar gibi yeterli veri sahibi olunamayan konaklarda mikrobiyal florada bulunan *E. coli*'nin antibiyotik direnç paternlerinin ve dirence sebep olan genlerin tespit edilmesi hem beşeri hem de veteriner hekimlikte potansiyel enfeksiyon sebeplerine karşı çözüm stratejilerinin oluşturulmasında büyük önem taşımaktadır. Bu durum göz önünde bulundurarak, bu tez çalışmasında insanlarla yakın temas halinde olan martı ve güvercinlerden izole edilen *E. coli* izolatlarının genotipik identifikasyonu, RAPD-PCR ile genotiplendirilmesi ve antibiyotik direnç durumunun fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesiyle yaban kuşların mikroflorasında bulunan *E. coli*'nin genetik çeşitliliği ve sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı direnç durumlarının belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yabani Kuşlar ve Mikroorganizma

Diğer hayvan türleri gibi yabani kanatlılar da çok çeşitli mikroorganizmalara duyarlıdırlar ve 40'tan fazla hastalık taşıdıkları ve insanlara ve çiftlik hayvanlarına bulaştırabildikleri bildirilmektedir (Gaukler vd., 2009). Günümüzde çeşitli insan faaliyetleriyle ilişkilendirilen kentleşme, tarımsal faaliyetlerdeki değişiklikler, aşırı nüfus ve iklim değişikliği gibi değişen koşullar, doğal çevrenin değişmesine neden olarak, çeşitli yabani hayatının beslenme alışkanlıklarını değiştirmeye zorlamakla patojen edinme olasılığını artırmaktadır (Chung vd., 2018; Furst vd., 2018). Bu durum yabani kuşların kontamine hayvan karkasları/hayvan atıklarıyla beslenerek ya da kontamine su aracılığıyla enfekte olmalarına olanak sağlamaktadır (Fashae vd., 2021). İnsan ve hayvancılık faaliyetlerinden kaynaklanan enfeksiyona maruz kalan yabani kanatlılar çevreyi kontamine ederek patojenlerin daha fazla yayılmasına neden olabilmektedir (Höfle vd., 2020).

Patojenik ve antibiyotiklere dirençli *E. coli* 'nin pek çok kanatlı hayvan türü ile insanlara bulaştırıldığı bilinmekle (Aworh vd., 2021) birlikte güvercin ve martı gibi yabani kanatlıların da insanlarla ve diğer kanatlı türleriyle de yakın temas halinde olduğu bilinmektedir (Goumas vd., 2020; Gülhan vd., 2012; Haag-Wackernagel, 2006; Radimersky vd., 2010). Bu yabani kanatlı türleri, insanlarla etkileşime sahip olmalarının yanı sıra kentsel alanlarda özellikle sahil gibi insanların bir araya geldiği yerde çok sayıda bulunmakta olup insan tarafından atılan yiyeceklerle beslenirler (Şekil 2.1). Bu durum patojenik mikroorganizmaların türler arası geçişinin kolaylaşmasına neden olmaktadır. Örneğin sinantropik martı türlerinin, sıklıkla sahillere, kümeslere, çiftliklere ve bahçelere uğradıkları için çeşitli zoonotik ajanların bulaşmasında rolü olabileceği öne sürülmüştür (Hubálek, 2021).

Antibiyotik direnci ile ilgili olarak, yabani kuşlar antibiyotik direncinin kaynakları, rezervuarları, yayıcıları ve biyoindikatörleri (biyolojik göstergeleri) olarak hareket edebilmektedirler (Bonnedahl ve Järhult, 2014; Radhouani vd., 2012). Yabani kuşların, çoklu antibiyotik direncine sahip bakterileri Arktik gibi Dünya'nın uzak bölgelerine taşınmasında rol oynadıkları düşünülmektedir (Sjölund vd., 2008). Bu da, yabani kuşların, temel özellikleriyle ilgili olarak küresel bir patojen dağılımına neden olabileceklerini düşündürmektedir (Chung vd., 2018; Smith vd., 2020). Patojen

dağılımını kolaylaştıran özellikleri yabani kanatlıların oldukça hareketli olmaları ve uzun mesafelere göç etme kabiliyetleridir (Chung vd., 2018). Dünyada her yıl 50 milyardan fazla kanatlının göç etmekte olduğu bilinmekte (Parin vd., 2019) olup özellikle göçmen kuşlar, uzun mesafelere göç etme yeteneklerinden dolayı çok çeşitli patojenlerin uzun mesafeli vektörleri olabilmektedir (Tsiodras vd., 2008).



Şekil 2.1. Şehir ve sahil alanlarında serbest yaşayan güvercin ve martıların yaygınlığı

2.2. *Escherichia coli* Hakkında Genel Bilgiler

2.2.1. Etiyoloji ve klasifikasyon

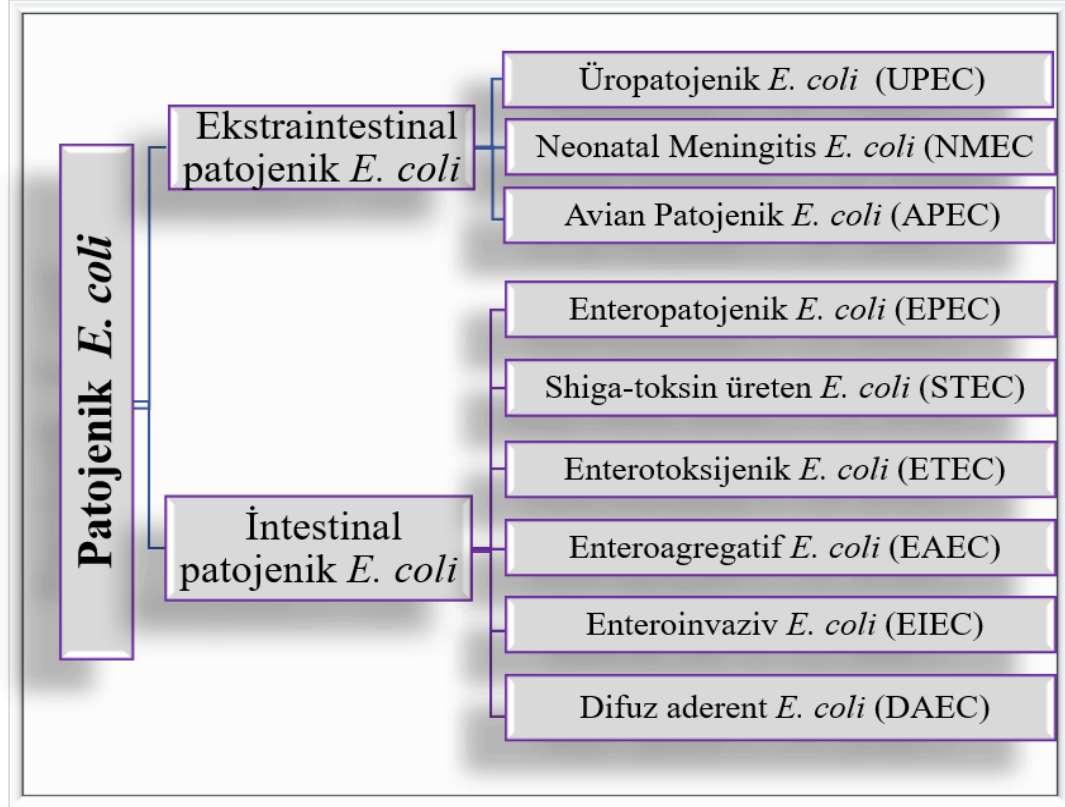
E. coli, ilk olarak 1885 yılında, bebek dışkı örneklerinden izole eden Theodor Escherich tarafından tanımlanmıştır (Shulman vd., 2007). Bu bakteri yakın zamanda gerçekleştirilen sınıflandırmaya göre *Enterobacterales* (eskiden *Enterobacteriales*) takımına (Adeolu vd., 2016) ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait olan bir bakteridir. *Enterobacteriaceae*'nın diğer üyeleri gibi çomak şekilde olup oksidaz negatif, sporsuz ve fakültatif anaerobik Gram negatif bakteridir (Elitok ve Bingüler 2017; Lim, vd., 2010). *E. coli* asit üretimi ile sonuçlanan güçlü laktoz fermentasyonu kabiliyetine bağlı olarak MacConkey Agar'da parlak pembe koloniler meydana getirmektedir. Bununla birlikte, Eozin Metilen Mavisli Agar'da (EMB) "metalik röfle" olarak bilinen bir koloni özelliğine sahiptir. Bu özellik, *E. coli*'yi diğer *Enterobacteriaceae* üyelerden ayırmaktadır. Ayrıca biyokimyasal olarak İndol, Metil red, Voges-Proskauer ve Sitrat kullanımı ile *E. coli*'nin fenotipik identifikasyonu yapılabilmektedir. Bu testlere göre *E. coli*'nin indol ve metil red pozitif, voges proskauer ve sitrat negatif olduğu bilinmektedir (Markey vd., 2013).

Serotiplendirmede *E. coli* esas olarak O (somatik), H (flagellar) ve K (kapsüller) antijenlerinin varlığına göre serogruplara/serotiplere ayrılabilir. Bu sınıflandırılmaya göre şu anda 171'den fazla somatik (O), 55 flagellar (H) ve 80 kapsüller (K) antijeni tanımlanmıştır (Elitok ve Bingüler, 2017; Sarowska vd., 2019).

E. coli kanatlılar da dâhil olmak üzere hayvanların ve insanların bağırsaklarında kommensal olarak yaşamaktadır. Etken kommensal olmasına rağmen önemli enfeksiyonlardan sorumlu olduğu için önemli insan ve hayvan patojenleri arasında yer almaktadır. *E. coli*'nin patotipleri etkilerini gösterdikleri yere göre "intestinal patojenik *E. coli* suşları (IPEC)" ve ekstra intestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) suşları" olarak klasifiye edilmektedir (Allocati vd., 2013; Omerovic vd., 2017; Sora vd., 2021). ExPEC, bağırsak dışı enfeksiyonlarla ilişkilendirilirken, IPEC enterik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu iki grup altında yer alan patojenik *E. coli* suşları, virülens faktörlerinin tipine ve neden oldukları enfeksiyon tipine göre farklı patotiplere ayrılmaktadır (Şekil 2.2) (Allocati vd., 2013).

Kanatlılarda hastalığa neden olan *E. coli* suşları avian patojenik *E. coli* (APEC) olarak bilinmektedir. Bu patotip bağırsak dışında hastalığa neden olan *E. coli*

suşlarının bir alt kümesi (Dziva ve Stevens, 2008; Johnson vd., 2007) olup avian kolibasillozise neden olarak farklı kanatlı türlerinde yaygın olarak çok çeşitli lokalize ve sistemik enfeksiyonlara yol açmaktadır (Guabiraba ve Schouler, 2015).



Şekil 2.2. Bazı patojenik *E. coli* patotipleri (Croxen vd., 2013; Sora vd., 2021)

Vero-toksijenik *E. coli* olarak da bilinen Shiga-toksin üreten *E. coli* (STEC), IPEC *E. coli* grubu arasında önemli bir zoonotik gıda kaynaklı patojendir. Bu patotipin bir alt grubu olan enterohemorajik *E. coli* (EHEC), dünyanın farklı yerlerinde kanlı ishal ve hemolitik üremik sendromundan sorumlu önemli bir zoonotik patojendir (Croxen vd., 2013). EPEC de tipik ve atipik olarak ikiye ayrılmaktadır. Tipik EPEC suşları hem intimin hem de bundle forming pili'ye sahiptir. Atipik EPEC ise aderens faktör (EAF) plazmidinden yoksun ama *eae* genine sahip EPEC'yi ifade etmektedir (Sanches vd., 2017). Bu patotip, bağırsaklardaki mikrovillusların kaybından ve bakterinin konağa bağlanmasından sorumlu temel virülens özelliği “attaching and effacing (A/E)” (“bağlanma ve silme”) lezyonları oluşturma yeteneğine sahip olmasıdır (Bardiau vd., 2010). ETEC, ısıya dayanıksız (heat-labile) veya ısıya dayanıklı (heat-stable) enterotoksin üretme yeteneği ile karakterize edilirken, EIEC, bağırsak epiteline yerleşme yeteneği ile karakterize edilmektedir (Denamur vd., 2021).

2.2.2. Virölens Faktörleri

E. coli'nin patojenik suşları, patogenezinin sorumlu olan birkaç virölens faktörü taşıyabilmektedir. Adezinler, toksinler, demir toplama faktörleri, polisakkarit kapsüller ve invazinler patojenik *E. coli* 'nin virölens faktörleri olarak bilinmektedir. Bu faktörler enfeksiyon oluşmasında önemli rol oynamaktadırlar. Örneğin adezinler, bakterilerin epiteli dokularına bağlanmasını sağladığı için enfeksiyon oluşturma aşamasında önem taşımaktadır (Omerovic vd., 2017; Sarowska vd., 2019). Tip1 fimbriae (*fim*), P fimbriae (*pap*), sıcaklık duyarlı hemaglutinin (*tsh*) ve aerobaktin (*iuc,aer*) ve artmış serum süresi (*iss*) gibi virölens faktörler APEC patotipinin virölens faktörü olarak tanımlanmıştır (Omerovic vd., 2017; Sarowska vd., 2019; Sora vd., 2021). Günümüzde, APEC'i avian fekal *E. coli*'den ayırmak için kesin bir yöntem bulunmamasına rağmen, bazı araştırmacılar *iroN*, *iutA*, *hlyF*, *omp* ve *iss* gibi genlerin bu suşların ayrılmasında kullanılabileceğini öne sürmektedir (Johnson vd., 2008).

Virölensle ilişkili genler, bakteriyel patojenite mekanizmasının aydınlatılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Tawakol ve Younes, 2019). Bu bağlamda, APEC dâhil yabani kuşlardan izole edilen patojenik *E. coli*'nin virölens profilinin göstergesi olan bazı virölens faktörleri tespit edilmiştir. Örneğin Islam vd. (2021) tarafından, APEC ile ilişkili virölens geni araştırılmış ve göçmen kuşlardan elde edilen izolatların *fimC*, *iucD* ve *papC* (P fimbriae) genlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Fimbrial adhezyon geninin (*fimH*), konak hücreye bağlanmaya aracılık ettiği bilinen adhezin virölens faktörlerine ait bir gen olup bu gen yabani kuşlardan izole edilen *E. coli*'de de rapor edilmektedir (Borges vd., 2017a; Tawakol ve Younes, 2019). STEC virölens genleri (*stx1*, *stx2* ve *eaeA*) de farklı yabani kuşlarda sıklıkla rapor edilmektedir (Barguigua vd., 2019; Bertelloni vd., 2019; Borges vd., 2017b; Fadel vd., 2017).

2.2.3. Ana Enfeksiyonlar ve Epidemiyolojisi

Avian kolibasillozunun etiyolojik ajanı olan APEC, dünya çapında kanatlı endüstrisini etkileyen ve kanatlıların tüm türlerinde yaştan bağımsız olarak enfeksiyona neden olabilen önemli hastalıklardan biri olarak kabul edilmektedir (Dziva ve Stevens, 2008; Guabiraba ve Schouler, 2015; Suvethika vd., 2021). APEC enfeksiyonu genellikle solunum yolunda başladığından, etkilenen kanatlı türleri solunum yolu enfeksiyonu ile karakterize bulgular şekillenir ve hava keseleri lezyonların görüldüğü olan ilk organdır (Germon vd., 2005). Etkenin trakea ve hava

keselerinde kolonizasyonu, sistemik enfeksiyonun ilk adımı olduğu düşünülmekte olup enfeksiyon sistemik hale geldiği durumlarda sepsisemi, perikarditis ve perihepatitise neden olabilmektedir (Germon vd., 2005; Guabiraba ve Schouler, 2015). Ayrıca kolibasillozis konjunktivitis, sinovitis, omfalitis, sarı kesesi enfeksiyonu, osteomiyelitis, salpingitis, şişmiş kafa sendromu, peritonitis, koligranüloması ve selülitisi içeren çeşitli hastalık semptomları ile karakterizedir (Guabiraba ve Schouler, 2015; Lutful Kabir, 2010; Nolan vd., 2019).

Yabani kuşlarda kolibasillozis oluşumu nadir olarak görülmektedir ve evcil hayvanlarda olduğu gibi özellikle yabani kanatlılara odaklanan ayrıntılı deneysel çalışmalar yetersizdir. Bu nedenle *E. coli* enfeksiyonlarının klinik belirtilerine ilişkin raporlar kısıtlıdır. Son zamanlarda kanaryalarda (*Serinus canaria*) APEC'in neden olduğu ilk avian kolibasillozis vakası olarak bildirilen salgında, tüm kanaryalar, infraorbital sinüsteki lezyonlar ve yüz ödemi içeren spesifik olmayan bir aynı klinik semptomları göstermişlerdir (Kimura vd., 2021). Almanya'da, şahinde (*Buteo buteo*) rastlanan bir *E. coli* (O8: H9, O48: H8) enfeksiyonu vakasında da dış granülomatöz lezyonlar, zayıflama ve ıslak kabarık tüylerin şekillendiği gözlenmiştir (Thiede ve Krone, 2001).

Yabani kuşlarda *E. coli*'nin varlığıyla ilgili olarak, çeşitli patotipler tanımlanmıştır (Borges vd., 2017b; Nabil vd., 2020). Kuşların beslenme ekolojisi (örneğin, atıklarda yiyecek arama) ve antropojenik (örneğin, insan veya hayvan faaliyetlerinden kaynaklanan çevre kirliliği) faktörlerinin, *E. coli*'nin epidemiyolojisinde önemli risk faktörü olduğu düşünülmektedir (Atterby vd., 2017; Höfle vd., 2020). Bu faktörlere bağlı olarak farklı yabani kuş türleri arasında *E. coli*'nin prevalansı farklılık gösterebilmektedir. Örneğin çöp alanlarında yiyecek arama, leyleklerde (*Ciconia ciconia*) sefalosporine dirençli *E. coli*'nin bulaşmasında önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (Höfle vd., 2020). Bir diğer önemli faktör ise kuş-insan ilişkileridir. Bunu destekleyen bir çalışmada, insanla yakın teması olan kuşların, insan yerleşiminden uzakta yaşayan kuşlara kıyasla daha yüksek oranda *E. coli* taşıma kapasitesine sahip olduklarını göstermiştir (Gordon ve Cowling, 2003). Genelde yabani kuşlar ve insanlar arasındaki etkileşimi sağlayan aktiviteler (örneğin atık su arıtma tesisleri, çöp depolama, hayvancılık alanları vb.) kuşların patojen edinme olasılığını artırabilmektedir (Guenther vd., 2012).

Kuş türlerine bağlı olarak *E. coli* prevalansındaki farklılıklar da rapor edilmiştir. Örneğin Malekian vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada kargalar, sığırcıklar, serçeler ve martılar arasında *E. coli* prevalansını inceleyip karabaşlı martılarda prevalansın (%96,6) diğer türlere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Farklı yabani kuş türleri arasında *E. coli*'nin varlığını bildiren başka bir çalışmada (Parker vd., 2016), kargalarda (*Corvus brachyrhynchos*) %92 oranında ve kızılgerdanda (*Turdus migratorius*) da ise %44,8 oranında olduğu bildirilmiştir. Hollanda'da yapılan bir çalışmada, diğer kuş türlerine kıyasla martılarda (%19,3) ve ördeklerde (%19,4) sefotaksime dirençli *E. coli*'nin daha yüksek oranda taşıyıcısı oldukları rapor edilmiştir (Veldman vd., 2013).

APEC suşlarının genellikle O18, O1, O78, O2, O8, ve O5 serogruplarına ait oldukları tanımlanmakla birlikte (Germon vd., 2005) farklı serogruplar da bildirilmektedir. Örneğin, yakın zamanda kanaryalarda (*Serinus canaria*) meydana gelen avian kolibasillosis salgınından izole edilen APEC izolatlarının %71,4'ü O117:H4 ve %23,8'inin O1: H20 serotiplerine ait olduğu belirlenmiştir (Kimura vd., 2021). Yabani kuş orijinli *E. coli*'nin diğer genel serogrupları ile ilgili olarak çeşitli serogruplar bildirilmektedir. Borges vd. (2017b) tarafından yapılan çalışmada yabani kuşlardan elde edilen izolatların O48, O137, O6 ve O110 serogruplarına ait oldukları belirlenmiştir. İtalya'da yapılan bir araştırmada (Gargiulo vd., 2018), 148 yırtıcı kuş türünde O26, O55 ve O145 serogruplar saptanmıştır. Mısır'da yapılan başka bir çalışmada virülens genlerine (*tsh*, *eaeA*, *fimH*) sahip göçmen kuşlardan izole edilen suşların O126, O158, O86 ve O125 serogruplara ait oldukları tespit edilmiştir (Tawakol ve Younes, 2019). İtalya'da martılardan izole edilen STEC suşlarının O157, O128, O11 ve O26 serogruplara ait olduklarını rapor edilmiştir (Russo vd., 2021). Sonuç olarak yukarıdaki çalışmaların ışığında, çeşitli serogruplara ait olan *E. coli* suşları, yabani kuşlardan izole edilmekte ve etkenin yaygınlığı, kanatlı türü ve coğrafik konumu gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir.

Bu patojenin epidemiyolojisinde önemli bir rol oynayabilecek olan yabani kuşların, etkeni dışkılarıyla saçtıkları süre ve patojenin dışkılarında veya diğer ortamlarda canlı kalma süresi, tartışılması gereken diğer önemli bir noktadır. Elde edilen bilgiler sonucunda, patojenin insanlara ve diğer evcil hayvanlara bulaşıp bulaşamayacağının belirlenmesi de büyük önem taşımaktadır (Smith vd., 2020). Bu bağlamda ördeklerde (*Anas platyrhynchos*) yapılan deneysel çalışma, ördeklerin

genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten *E. coli*'yi en az 29 gün boyunca taşıyabildikleri belirlenmiştir (Sandegren vd., 2018). Sığırcıkların (*Sturnus vulgaris*) da *E. coli* O157: H7'yi en az iki hafta boyunca bulaştırma yeteneklerine sahip oldukları gösterilmiştir (Kauffman ve LeJeune, 2011). Başka bir çalışmada, martıların dışkılarıyla en az iki hafta boyunca *mcr-1* genine sahip *E. coli*'yi en az 10^1 CFU/g saçtığı ve saçılan bakterilerin ortamda 29 gün canlı kaldığı rapor edilmiştir (Franklin vd., 2020). Genelde kuşların uzun mesafelerde serbestçe uçabilme yetenekleri göz önüne alındığında, bu süre patojenik *E. coli* suşlarının çevreye yayılmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Kauffman ve LeJeune, 2011; Sandegren vd., 2018).

2.2.4. Yabani Kuşlarda *E. coli*'nin Küresel ve Türkiye'deki Durumu

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, çeşitli yabani kuş türlerinde STEC, ETEC ve EPEC dâhil olmak üzere önemli patojenik *E. coli* patotiplerini bildirmiştir (Borges vd., 2017b, 2017a; Gülhan, 2003; Islam vd., 2021a; Nabil vd., 2020; Navarro-gonzalez vd., 2020). Günümüzde, *E. coli* Güney Amerika (Ahlstrom vd., 2019, 2021; Hernandez vd., 2013; Navarro-gonzalez vd., 2020; Parker vd., 2016), Afrika (Awadallah vd., 2013; Ben Yahia vd., 2018), Avrupa (Gargiulo vd., 2018; Guenther vd., 2012; Höfle vd., 2020; Nowaczek vd., 2021; Russo vd., 2021; Skarżyńska vd., 2021; Veldman vd., 2013; Velhner vd., 2021), Avustralya (Mukerji vd., 2019; Smith vd., 2019) ve Asya (Elsohaby vd., 2021; Islam vd., 2021a; Yuan vd., 2021) dâhil olmak üzere dünyanın farklı bölgelerinde çeşitli yabani kuşlardan izole edilmiştir (Tablo 2.1).

STEC'in 1980'lerin başında insanlarda enfeksiyona neden olduğu raporlanmış olmasına rağmen (Karmali vd., 1983), mevcut bilgiler bu patotipin 1997 yılına kadar yabani kuşlardan izole edilmediğini göstermektedir. 1997'de İngiltere'de yapılan çalışmada araştırmacılar tarafından ilk kez yabani kuşlardan *E. coli* O157'yi izole edilmiş ve bu patojenin rezervuarı olma potansiyellerinin olduğu vurgulanmıştır (Wallace vd., 1997). Bunu takiben, pek çok çalışma, insan patojeni ile ilişkili olduğu bilinen *E. coli* virülens genleri (*stx1*, *stx2*, *eae*), çeşitli yabani kanatlı türlerinde bildirilmektedir (Fadel vd., 2017; Gargiulo vd., 2014; Hughes vd., 2009; Nielsen vd., 2004; Russo vd., 2021).

Russo vd. (2021) tarafından İtalya'da yapılan çalışmada 225 sarı bacaklı martının (*Larus michahellis*) kloakal svabını incelemişler ve 189 (%84) martıdan *E. coli* izole etmişler. İzolatların %13,3'ünün STEC olduğunu da rapor etmişlerdir. Suudi Arabistan'da yapılan başka bir çalışmada, 210 göçmen yabani kuşta *E. coli*'nin

prevalansı % 42,9 olarak bildirilmiştir (Elsohaby vd., 2021). Aynı şekilde Bangladeş'te yapılan başka bir çalışmada 66 göçmen kuşa ait dışkı örneği incelenmiş ve kuşların %83,33'ünün (55/66) *E. coli*'ye sahip olduğu bulunmuştur (Islam vd., 2021a). ABD'de yapılan bir çalışmada araştırmacılar, tarım arazilerinin yakınında yaşayan çeşitli yabani kuş türlerinden birden fazla örnek toplayıp incelemişlerdir. Dışkı örneklerinde (bireysel düzeyde) %0,34 (2/583) *E. coli* O157: H7 ve %0,5 (3/583) O157 olmayan STEC bulunduğu tespit edilirken, ayak/tüy svaplarında ise %0,5 (2/401) O157 olmayan STEC saptandığını bildirilmiştir (Navarro-gonzalez vd., 2020).

Borges vd. (2017b) tarafından, 123 adet serbest yaşayan yabani kanatlılardan alınan kloakal ve oro-farenkseklerinde STEC ve EPEC'in durumunu belirlemek amacıyla yapılan çalışmada yabani kuşlardan %0,8 oranında STEC ve %2 oranında EPEC suşu izole edilmiştir. Bununla birlikte %2 oranla EPEC suşu güvercinlerden elde edilmiştir. İtalya'da Gargiulo vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, incelenen 148 adet yırtıcı kuştan %6,8'inin (10/148) *E. coli* pozitif olduğu bulunmuştur. Ayrıca, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diurnal (günlük) yırtıcı kuşlarda (%6,7) nokturnal (gece) yırtıcı kuşlarda (%7,0) prevalansın farklı olduğu tespit edilmiştir. Awadallah vd. (2013) Mısır'da yaptıkları çalışmada, yaban kuşlarından (güvercinler, sığır ak balıkçılları, bıldırcınlar ve serçeler) toplanan 400 adet kloakal svapta *E. coli* prevalansını incelemişler ve 192 tanesinde (%48) (bıldırcın %47, güvercinler %49, serçeler %45, sığır ak balıkçılları %51) *E. coli* varlığı tespit edilmiştir.

Türkiye'deki durumuna bakıldığında, bu patojenin yabani kuşlardaki durumuna ilişkin bilgiler sınırlı görülmektedir. Gülhan vd. (2012), martı ve ördeklerden toplanan 357 adet dışkı örneğini inceleyip örneklerin %2,5'inde (9/357) *E. coli*'yi tespit etmişlerdir. Ayrıca izolatların %22,2'sinin O157 serogrubuna ait olduğu bildirmişlerdir. Yapıcı vd. (2022) rehabilitasyon merkezinden alınan 82 adet ölü göçmen ve göçmen olmayan yabani kuşun bağırsak ve dışkı örneklerinde *E. coli* durumunu incelemişlerdir ve 51 tanesinde (%62,1) *E. coli* izolatı olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışma çok çeşitli yabani kuş türlerini kapsamasına rağmen, çalışmaya dâhil edilen bireysel kuş türlerinin sayısı sınırlı sayıdadır. Örneğin, araştırmaya dâhil edilen martı ve güvercin sayısı az olduğundan (sadece bir martı ve bir güvercin) söz konusu kuş türlerinin toplam popülasyonundaki *E. coli* durumu hakkında net bir sonuca varmak için yeterli olmamaktadır.

Tablo 2.1. Yabani kanatlılardan izole edilen *E. coli* özellikleri ve günümüzdeki durumu

Yaban kanatlı türleri	Ülke	Örnek türü	n/N/ (%P)	Virülens/direnç özellikleri	Kaynak
Çeşitli	Türkiye	Bağırsak ve dışkı	51/829(62,2)	İzolatların %80'inden fazlasında linkomisin, penisilin ve kanamisine karşı direnç bulunup %58,82'sinde çoklu ilaç direnci patterni saptanmıştır	(Yapicier vd., 2022)
Göçmen kuşlar	Çin	Dışkı örneği, kloakal/boğaz swap	478/1387(34,7)	İzolatların %15,3'i çoklu antibiyotik direncine sahip. Tetrasiklin (<i>tet(A)</i> , <i>tet(B)</i> , <i>tet(M)</i>), sülfonamidler (<i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>sul3</i>), kloramfenikol (<i>cmlA</i> , <i>floR</i>) ve beta-laktamlara (<i>bla_{CTX-M}</i> , <i>bla_{TEM-1}</i>) direnç kazandıran genler tespit edilmiştir	(Yuan vd., 2021)
Çeşitli	Polonya	Dışkı	32/34	İzolatların %31,2'i çoklu antibiyotik direncine sahip . Çeşitli direnç (<i>aphA</i> , <i>sul2</i> , <i>sul3</i> , <i>tet(A)</i> , <i>aadA strA/strB</i> ve virülens genleri (<i>iss</i> , <i>iutA</i> , <i>iucD</i> , <i>pap-C</i> , <i>tsh</i>) saptanmıştır	(Nowaczek vd., 2021)
Sarı bacaklı martılar (<i>Larus michahellis</i>)	İtalya	Kloakal swap	189/225 (84) 30/225 (13,3) ^a	İzolatlar, farklı ilaçlara değişen derecelerde direnç göstermiş, ancak hepsi kloramfenikole duyarlı bulunmuştur. <i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i> virülens genleri saptanmıştır	(Russo vd., 2021)
Göçmen kuşlar	Suudi Arabistan	Kloakal swap	90/210 (42,9)	İzolatların %14,4'ü çoklu antibiyotik dirençlidir. Direnç genleri (<i>bla_{CTX-M}</i> , <i>bla_{TEM}</i> , <i>bla_{SHV}</i> , <i>aac (3) IV</i> , <i>qnrA</i> ve <i>tet (A)</i>) tespit edilmiştir. Virülens genleri (<i>eaeA</i> 9/90 (%10), <i>stx2</i> 5/90 (%5,6) ve <i>eaeA</i> ve <i>stx2</i> birlikte 4/90 (%4,4) tespit edilmiştir	(Elsahaby vd., 2021)
Göçmen kuşlar	Bangladeş	Dışkı	62/66 (93,94) 55/66 (%83,3) ^b	Tüm izolatlar çoklu antibiyotik direncine sahip ve ampisilin ve eritromisine karşı %100 direnç görünmüştür. Virülens genleri (<i>Fimc</i> , <i>iucd</i> , ve <i>papc</i>) saptanmıştır.	(Islam vd., 2021a)
Çeşitli	Mısır	Kloakal swap	55/148 (37,2)	Tetrasiklin (%96) amoksisilin (%96) streptomisine (%85) ampisiline (%82) karşı nispeten yüksek bir ilaç direnci tespit edilmiştir.	(Nabil vd., 2020)
Çeşitli	Singapur	Dışkı	26/96(27,1)	İzolatların %23 çoklu antibiyotik direncine sahip . Çeşitli direnç genleri saptanmıştır	(Ong vd., 2020)
Göçmen kuşlar	Mısır	-	25/100 (25)	İzolatların %64 çoklu antibiyotik direncine sahip . Virülens genleri (<i>tsh</i> , <i>eaeA</i> , ve <i>fimH</i>) saptanmıştır	(Tawakol ve Younes, 2019)

Tablo 2.1. (devam)

Martı (<i>Chroicocephalus novaehollandiae</i>)	Avustralya	Svap (taze dışkıdan)	258/562 (46)	Ampisilin (%86) ve siprofloksasine (%64) karşı diğer ilaçlara göre nispeten daha yüksek direnç saptanmıştır. Direnç genleri: PAKD genleri (<i>qnrB4</i> , <i>qnrB6</i> ve <i>qnrS1</i>) ve beta laktamazlar saptanmıştır.	(Mukerji vd., 2019)
Sarı bacaklı martılar (<i>Larus michahellis</i>)	Fas	Kloakal swap	28/40	İzolatların %71, 4'u çoklu antibiyotik direncine sahip olup tetrasiklin ve amoksisiline karşı nispeten yüksek bir direnç saptanmıştır. Direnç genleri: <i>qnrB1</i> , <i>qnrS1</i> , <i>aac(60)-Ib</i>	(Barguigua vd., 2019)
Çeşitli	Avustralya	Kloakal swap	15/121(12)	İzolatların %23'ü çoklu antibiyotik direncine sahip . İzolatların %34'ü ampisilin ve streptomisine, %7'si amikasin, gentamisin ve amoksisiline, %4'ü tetrasiklin, seftazidim ve kloramfenikol'e direnç göstermiştir. Tüm izolatlarda siprofloksasin, nalidiksik asit, kotrimoksazol ve imipeneme duyarlılık gözlenmiştir.	(Smith vd., 2019)
Güvercin (<i>Columba livia</i>)	Brezilya	Kloakal swap	121/124 (97,58)	İzolatlar azitromisin, sülfametoksazol-trimetoprim ve tetrasikline farklı oranlarda direnç göstermiştir. Test edilen izolatların (110) %3,64'ü çoklu antibiyotik direncine sahip bulunmuştur.	(Horn vd., 2018)
Çeşitli	Tunus	Dışkı	12/111 (10,8) ^c	Direnç genleri (<i>bla_{CTX-M}</i> , <i>tet(A)</i> , <i>sul3</i> ve <i>aac(3)-II</i> ve Virülens genleri (<i>fimA</i> (10 izolatta), <i>papC</i> (7 izolatta), <i>aer</i> (5 izolatta) ve <i>eae</i> (1 izolatta)) saptanmıştır.	(Ben Yahia vd., 2018)
Çeşitli	Mısır	swap (bağırsak içeriğinden)	87/177 (49,1) 30/177 (16,9) ^a	İzole edilen tüm STEC izolatları sefotaksim, doksisisiklin, sefalotin ve sülfisoksazole direnç gösterken sefiksim (%93,3) ve gentamisin (%56,7) karşı duyarlılık göstermiştir. Virülens genleri (<i>stx1</i> ve <i>stx2</i>) tespit edilmiştir.	(Fadel vd., 2017)
Sarı bacaklı martılar (<i>Larus michahellis</i>)	İspanya	Dışkı	72/132(54,5) ^c		(Vergara vd., 2017)
Göçmen kuşlar	Pakistan	Dışkı	26/150 (%17,3) ^c	GSBL üreten izolatların %88,4'ü (23/26) çoklu antibiyotik direnci göstermiştir.	(Mohsin vd., 2017)
Çeşitli	Kanada	Kloakal swap	51/75(%68)	GSBL üreten izolatların %3,9'unda (2/51) Çoklu antibiyotik direnci (3/51)	(Parker vd., 2016)

Tablo2. 1. (devam)

Çeşitli	İrlanda	Dışkı	87/116	İzolatların %5'inden fazlası çoklu antibiyotik direnci göstermiştir Direnc genleri: <i>bla</i> _{TEM} , <i>tet(A)</i> , <i>tet(B)</i> ve <i>strA</i>	(Carroll vd., 2015)
Çeşitli	Avusturya ve Çek Cumhuriyeti	Kloakal swap	943/1.191(79,2)	intimin (<i>eaeA</i>) (%8,7%) ve Shiga toksinleri (<i>stx1</i> ve <i>stx2</i>) (%0,2) bulunmuştur.	(Konicek vd., 2016)
Bıldırcınlar (<i>Coturnix coturnix</i>)	İtalya	Kloakal swap	4/70 (5,7) ^a	Tüm izolatlar <i>stx1</i> , <i>stx2</i> ve <i>eae</i> genleri taşımıştır	(Dipineto vd., 2014)
Çeşitli	Portekiz	Dışkı örneği, Kloakal swap	115/218(52,75)	Eritromisin, tetrasiklin, siprofloksasin ve diğer antibiyotiklere karşı direnc saptanmıştır. Direnc genleri: <i>aadA</i> , <i>aadA5</i> , <i>strA</i> , <i>strB</i> , <i>tet(A)</i> , <i>tet(B)</i> ve <i>bla</i> _{TEM} tespit edilmiştir	(Santos vd., 2013)
Martı	Bangladeş	Dışkı	85/150 (56,7)	İzolatların %11,8'inin çoklu antibiyotik dirençli olduğu bulunmuştur. Ampisiline karşı nispeten daha yüksek direnc tespit edilmiştir	(Hasan vd., 2014)
Güvercinler (<i>Columba livia</i>)	İtalya	Kloakal swap	141/1800 (7,8) ^a	Tüm izolatlar <i>stx</i> genleri taşırken izolatların %14,9'si (21/141) <i>eae</i> genini taşımıştır	(Gargiulo vd., 2014)
Martı ve ördek	Türkiye	Dışkı	9/357 (2,5)		(Gülhan vd., 2012)
Şahin (<i>Buteo buteo</i>)	Portekiz	Dışkı	36/42 (85,7)	Diğer antibiyotiklerle karşılaştırıldığında, izolatlar tetrasiklin ve streptomisine (izolatların %75'i) nispeten yüksek dirençliyken, tümü seftazidim ve sefotaksime duyarlı bulunmuştur. Ayrıca <i>aac(3)-II</i> , <i>aac(3)-IV</i> , <i>aadA1</i> , <i>tet(A)</i> , <i>tet(B)</i> , <i>cmlA</i> , <i>sul1</i> , <i>sul2</i> ve <i>sul3</i> saptanmıştır	(Radhouani vd., 2012)
Güvercin	Çek Cumhuriyeti	Kloakal swap	203/247	Fenotipik olarak tetrasiklin, sülfonamidler ve streptomisine karşı direnc bulunup <i>strA</i> , <i>tet(A)</i> , <i>tet(B)</i> ve <i>sul1</i> direnc genleri saptanmıştır	(Radimersky vd., 2010)

N: Örnek sayısı, n: Pozitif sayısı, P: prevalans, a: STEC, b: PCR ile pozitif gösteren, c: GSBL *E. coli*, PAKD: Plazmid aracılı kinolon direnci

2.2.5. Halk ve Hayvan Sağlığında Önemi

2.2.5.1. Halk Sağlığı Açısından Önemi

ExPEC arasında tanımlanan, üropatojenik *E. coli*, neonatal menenjitis *E. coli* ve avian patojenik *E. coli*, sırasıyla idrar yolu enfeksiyonları, neonetal menenjitis ve avian kolibasillozise neden oldukları bilinmektedir. Bu patotipler, farklı konak türleri ve enfeksiyonları ile ilişkilendirilse de birçok benzerliğe sahip oldukları ortaya konulmuştur (Tivendale vd., 2010). Virülens genleri, filogenetik grupları, sekans tipi (ST), serogrupları ve antimikrobiyal direnç paternlerinde benzerlik saptanmıştır (Fancher vd., 2020; Johnson vd., 2007; Maluta vd., 2014; Moulin-Schouleur vd., 2007; Rodriguez-Siek vd., 2005; Tivendale vd., 2010). İzolatlar arasında belirlenen filogenetik yakınlık APEC suşlarının, insan üropatojenik *E. coli* gibi ExPEC suşları açısından virülens genlerin rezervuarı olabildiğini göstermektedir (Rodriguez-Siek vd., 2005). Bununla birlikte bazı avian kolibasillozis suşları (özellikle serogrup O18), rat modelinde neonatal menenjitise neden olmuştur (Tivendale vd., 2010). Ayrıca, ExPEC suşlarının konak özgüllüğü hakkında soruları gündeme getiren ExPEC'in insan izolatlarının, kanatlılarda APEC'in neden olduğu gibi kolibasillozise neden olduğu rapor edilmiştir (Moulin-Schouleur vd., 2007). Yukarıdaki noktalara dayanarak, birçok yazar APEC'in olası zoonotik riskini vurgulamışlardır (Maluta vd., 2014; Manges ve Johnson, 2012; Mellata, 2013; Moulin-Schouleur vd., 2007; Tivendale vd., 2010).

Yabani kuşların, atık sular ve insanlardan elde edilen antibiyotiklere dirençli *E. coli* izolatlarının yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir (Varela vd., 2015). Moleküler çalışmalar, yabani kuşların ve insanların aynı GSBL üreten *E. coli* popülasyonlarını paylaştığını vurgulamaktadır (Atterby vd., 2017; Bonnedahl vd., 2010, 2009; Hernandez vd., 2013). Hasan vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada evcil kümes hayvanları, yabani kuşlar ve insanlar arasında *bla*_{CTX-M} genlerinin paylaşıldığı bildirilmiştir. İnsan kökenli antibiyotiklere direnç özelliklerine sahip *E. coli* ile enfekte yabani kuşlar, çevreyi kontamine ederek insan popülasyonlarını yeniden enfekte edebilmektedirler (Bonnedahl vd., 2009). Bu nedenle, yabani kuşların antibiyotiklere dirençli bakteri taşıyıcıları veya rezervuarı olmaları, halk sağlığı açısından önemli bir role sahiptir (Borges vd., 2017a; Islam vd., 2021a; Russo vd., 2021).

İnsanlarda ishal, hemorajik kolitis ve hemolitik üremik sendromun başlıca nedeni olan STEC'in yabani kuşlar tarafından taşınması da önemli bir halk sağlığı sorunu

olabilmektedir (Hughes vd., 2009). Bu patotipin, dünya çapında halk sağlığını tehdit eden gastroenteritis salgınlarına neden olduğu bilinmektedir (Persad ve LeJeune, 2014). Sığırlar STEC'nin ana rezervuarı olsa da, yabani kanatlıların da bu patotipi taşıdığı bilinmektedir (Persad ve LeJeune, 2014). Yabani kuşlarla ilişkili insan STEC O157 enfeksiyonu vakası İngiltere'de rapor edilmiştir (Ejidokun vd., 2006). Ayrıca ABD'de insanlarda yüzme ile bağlantılı *E. coli* O157: H7 enfeksiyonu salgını yabani kanatlılarla ilişkilendirilmiştir. Bu salgında ördek dışkısı, insan ve su örneklerinden izole edilen *E. coli* O157: H7 izolatu, Pulse-field gel electrophoresis (PFGE) ile karşılaştırılmış ve aynı patern gözlenmiştir (Samadpour vd., 2002). Genel olarak, yabani kuşlar STEC virülens genlerinin rezervuarı olarak kabul edilebilmekte (Hughes vd., 2009) ve çevreyi *E. coli* O157:H7 ile kontamine edebilmektedir (Samadpour vd., 2002). Bu kapsamda hareketli ve göçmen özellikleri göz önüne alındığında, yabani kuşlar STEC gibi iyi bilinen zoonotik patojenlerin epidemiyolojisinde rol oynayabilmektedirler (Ejidokun vd., 2006; Hughes vd., 2009).

2.2.5.2. Hayvan Sağlığında Önemi

Yabani kuşların, insan sağlığındaki önemlerinin yanı sıra hayvan sağlığı açısından da taşıdıkları hastalık etkenleri bakımından epidemiyolojik anlamda risk oluşturabilmektedir. Sığırcık-sığır ilişkisi ve besi ünitesindeki patojen durumuna odaklanarak yapılan çalışmalar, beslenme alandaki kuş varlığı ve sayısı ve sığırdaki *E. coli* prevalansı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Carlson vd., 2020; Kauffman ve LeJeune, 2011). ABD'de yapılan bir araştırmada, beslenme alandaki kuş sayısı arttıkça sığırlarda siprofloksasine dirençli *E. coli*'nin dışkıyla saçılımının arttığı bildirilmiştir (Carlson vd., 2020). Benzer bir çalışmada *E. coli* O157: H7 ile deneysel olarak enfekte edilmiş sığırcıklar ve *E. coli* O157-negatif buzağı birlikte barındırılıp sığırcıklar, *E. coli*'nin buzağıya bulaşmasına neden olmuştur. Ayrıca bu çalışmada kuştan kuşa ve buzağıdan kuşa bulaşma olduğu da rapor edilmiştir (Kauffman ve LeJeune, 2011).

Başka bir çalışmada, süt çiftliklerindeki *E. coli* O157: H7 prevalansı ile sığırcık yoğunluğu arasındaki ilişki araştırılmış ve sığır dışkılarında *E. coli* O157: H7 prevalansının sığırcık yoğunluğu ile istatistiksel olarak anlamlı korelasyon göstermiştir (Cernicchiaro vd., 2012). Kuşların süt çiftlikleri arasında *E. coli* O157: H7 bulaşmasına katkıda bulunduğu hipotezini destekleyen başka bir çalışmada (Williams vd., 2011), sığırlar ve sığırcıklardan elde edilen *E. coli* O157: H7 izolatları arasındaki genetik ilişkiyi

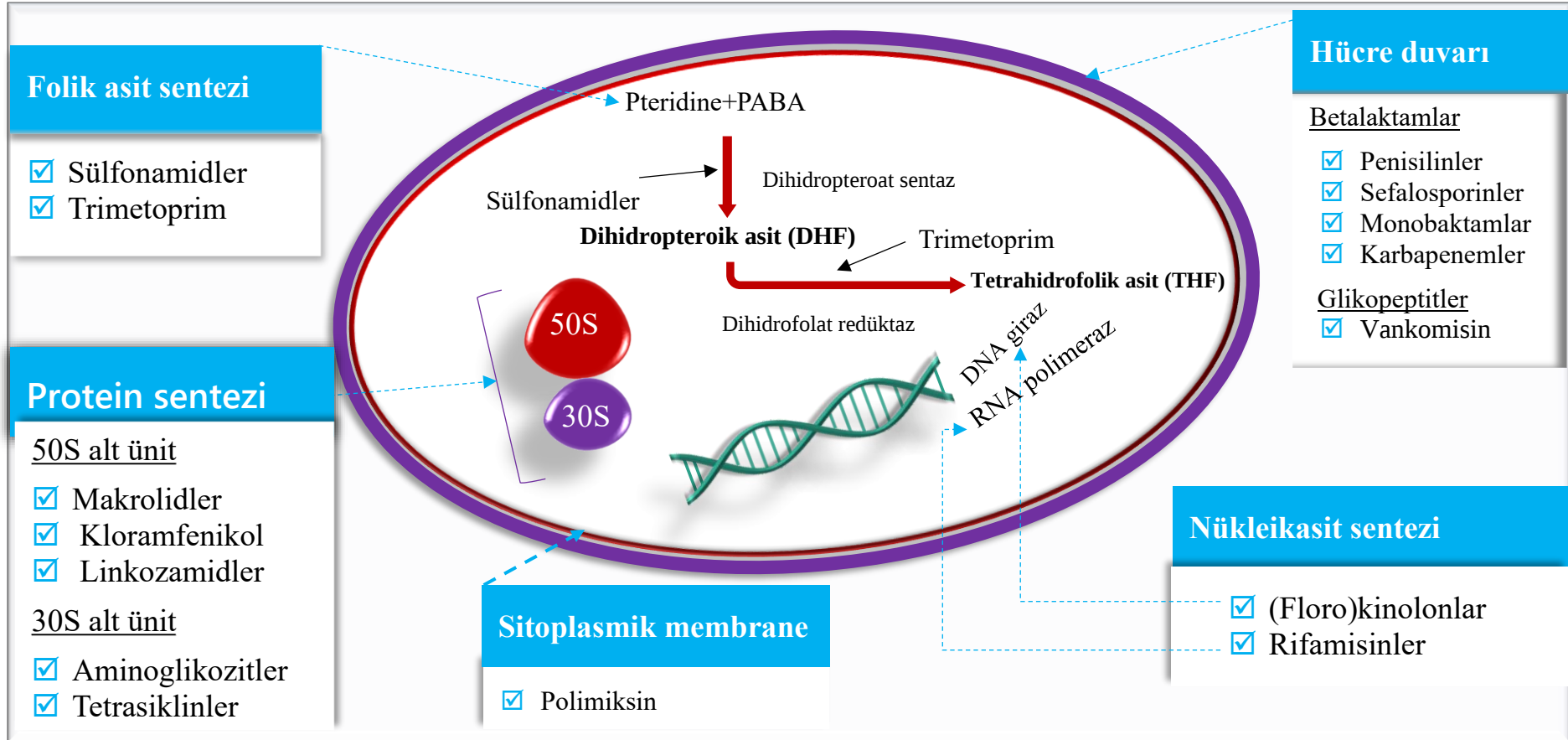
analiz edilerek benzerlik bulunmuştur. Bu bulgulara göre araştırmacılar, sığırcıkların (*Sturnus vulgaris*) *E. coli* O157: H7 için biyolojik vektör olduğunu vurgulamışlardır.

Sığır ve domuz çiftliklerine yakın yabani kuşlarda STEC'yi araştıran araştırmacılar da sığırcıklardan izole edilen STEC izolatlarının virülens özelliği, serotip ve PFGE paterni açısından çiftliklerdeki sığır izolatlarıyla aynı olduğunu göstermişlerdir (Nielsen vd., 2004). Sonuç olarak, birçok özelliğinde benzerlik olan STEC'in kuşlar ve evcil hayvanlar arasında bulaşabilmesi, yabani kanatlıların vektör veya rezervuar olarak evcil hayvanlarda bu patojenin epidemiyolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, çiftlik hayvanlarının çevresinde çok sayıda sığırcık gibi kuşun bir araya gelmesi, patojenlerin çiftlik hayvanlarına yayılması için bir risk faktörü olabilmektedir (Fahim vd., 2019; Kauffman ve LeJeune, 2011; Medhanie vd., 2016; Nielsen vd., 2004; Williams vd., 2011).

2.3. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Davies ve Davies (2010), antibiyotikleri “belirli bir bileşiğin veya sınıfın kaynağına bakılmaksızın, bakteriyel hedeflerle spesifik etkileşimler yoluyla bakterilerin üremesini inhibe eden veya öldüren herhangi bir organik molekül sınıfı” olarak tanımlamışlardır. Antibiyotikler doğal (bakteri ve mantarlar tarafından üretilen), sentetik ve yarı sentetik (kimyasal olarak değiştirilmiş doğal antibiyotikler) moleküller olarak sınıflandırılabilir (Grenni vd., 2018). Etki mekanizmaları açısından antibiyotik ajanlar bakteriler üzerinde bakteriyostatik (üremeye engel olmak) veya bakterisidal (öldürücü etki) olmak üzere iki etki göstermektedirler (Yoneyama ve Katsumata, 2006). Bu etkileri de belirli bakteri bölgelerini hedefleyerek göstermekte olup bakteriler de antibiyotiğin onları etkilediği mekanizma yoluyla antibiyotik ajanlara direnç geliştirmektedirler. İlacın özelliği, bakteri türü ve antibiyotiğin hedef bölgesinin antibiyotik direnç oluşumunda rol oynadığına inanılmaktadır (Pulingam vd., 2022). Bu yüzden antibiyotiklerin bakteriler üzerindeki hedef bölgelerini ve bu bölgelerdeki etkilerini nasıl gösterdiklerini anlamak, antibiyotik direnç mekanizmalarının anlaşılmasında önemli bir role sahiptir (Džidić vd., 2008).

Antibiyotik ajanlar, etkiledikleri hedef bölgelere göre farklı kategoriye ayrılmaktadır. Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu, protein sentezinin inhibisyonu, nükleik asit sentezinin inhibisyonu, sitoplazmik membran fonksiyonunun değiştirilmesi ve metabolik yolların inhibisyonu, antibiyotiklerin etkilerini gösterdiği ana mekanizmalardır (Abushaheen vd., 2020; Džidić vd., 2008). Antibiyotiklerin başlıca hedefleri Şekil 2.3’de gösterildi.



Şekil 2.3. Antibiyotiklerin başlıca hedefleri (Kapoor vd. (2017) den uyarlanmıştır)

2.3.1. Hücre Duvarı Sentezinin İnhibisyonu

Bakterilerde bulunup memelilerde bulunmadığından antibiyotikler için önemli bir hedef olan bakteriyel hücre duvarının temel işlevi bakterilerinin hücre şeklinin korunması ve ozmotik basınca karşı koruma olmasıyla bakteri yaşam döngüsünde önemli bir rol oynamaktadır (Green, 2002; Sarkar vd., 2017). Normal koşullarda, bakteriler, kısa peptidler ile çapraz bağlanmış glikan ipliklerinden oluşan sert bir peptidoglikan ile kendisini ozmolizden korur (Vollmer vd., 2008). Bu yapı, kalınlıkları farklı olsa da hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının yapısal bir parçasıdır (Yoneyama ve Katsumata, 2006). Hücre duvarı sentezini inhibe edenler arasında yer alan beta-laktam antibiyotiklerin (penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler), penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanarak etki gösterdikleri bilinmektedir (Kapoor vd., 2017; Sarkar vd., 2017). Transpeptidaz inhibitörleri olan beta-laktamlar, olgun peptidoglikan oluşumunu inhibe etmektedir. Bu da bakterinin lizisine veya ölüme (bakterisidal) neden olabilmektedir (Liwa ve Jaka, 2015).

2.3.2. Protein Sentezinin İnhibisyonu

Bakteriyel protein sentezi, iki ribonükleoprotein alt biriminden (30S ve 50S alt birimleri) oluşan 70S ribozomunda gerçekleşmektedir (Lin vd., 2018; Liwa ve Jaka, 2015; Mccoy vd., 2011). Antibiyotikler, 70S bakteri ribozomunun 30S alt biriminde (örneğin tetrasiklinler ve aminoglikozidler) veya 50S alt biriminde (örneğin kloramfenikol) bakteriyel protein sentezi sürecini (başlatma, uzatma ve sonlandırma) engelleyebilmektedirler (Abushaheen vd., 2020). 30S ribozomal alt birimine bağlanan antibiyotikler çoğunlukla başlatmaya müdahale ederken, 50S ribozomal alt birimine bağlanan antibiyotikler ise özellikle uzama süreçlerine etki etmektedir (Liwa ve Jaka, 2015). Bu süreçte bakteri ve ökaryotik ribozomlardaki yapısal farklılık, antibiyotiklerin selektif toksisitesini sağlamaktadır (Abushaheen vd., 2020; Yoneyama ve Katsumata, 2006).

Geniş spektrumlu bakteriyostatik antibiyotik olan kloramfenikolün, 50S ribozomal alt ünitesindeki peptidiltransferaza bağlanarak peptid bağının oluşumunu önlediği bilinmektedir (Liwa ve Jaka, 2015). Makrolidler (örneğin, eritromisin) de aynı ribozomal alt birime bağlanıp protein sentezinin erken aşamasını (translokasyon) bozmaktadır (Bockstael ve Van Aerschot, 2009). Bu etkiyle, tamamlanmamış peptid zincirlerinin

erken ayrılması, yeni oluşan polipeptid zincirlerinin uzaması engellenmektedir (Bockstael ve Van Aerschot, 2009; Džidić vd., 2008).

Bakteriyel protein sentezine (özellikle 30S ribozomal alt birimine bağlanarak) etki eden diğer ilaç grupları tetrasiklinler ve aminoglikozidlerdir. Tetrasiklinler, aminoasıl transfer RNA (tRNA)'nın ribozomun A bölgesine bağlanmasını önleyerek translasyon sürecini engellediği bilinen önemli bakteriyostatik ajanlardır (Kapoor vd., 2017). Aminoglikozidler, 30S ribozomal alt birimine bağlanan ve translasyonun erken sonlandırmasına neden olan bir başka önemli antibiyotik grubudur (Bockstael ve Van Aerschot, 2009). Bu ilaç grubunun, mRNA'nın yanlış okumasına ve fonksiyonel olmayan komplekslerin oluşumuna neden olarak bakterileri öldürdüğü düşünülmektedir (Liwa ve Jaka, 2015). Hem tetrasiklinler hem de aminoglikozidler etkilerini göstermek için 30S ribozomal alt birimine bağlansalar da, tRNA'nın A bölgesine bağlanmasını geri dönüşümlü olarak inhibe eden tetrasiklinden farklı olarak aminoglikozidler 30S ribozomal alt biriminin A bölgesine geri dönüşümsüz olarak bağlanmaktadır (Singh vd., 2021).

2.3.3. Nükleik Asit Sentezinin İnhibisyonu

Antibiyotiklerin bir diğer etki mekanizması da nükleik asit sentezinde önemli bir enzim olan DNA topoizomeraaz aktivitesinin inhibisyonudur. DNA sentezi sırasında kalıp olarak kullanılabilmesi için iki tek sarmallı yapıya dönüştürülmesi gereken çift sarmallı DNA'nın açılması işlemi bakteriyel topoizomeraaz tip II enzimler (DNA giraz ve DNA topoizomeraaz IV) tarafından gerçekleştirilmektedir (Pham vd., 2019). Bu enzimlerin yokluğu, pozitif ve negatif süper sarmalı etkilediği için normal DNA oluşumunu engellemektedir (Abushaheen vd., 2020). Bu nedenle antibiyotikler bu enzimlerin aktivitesini inhibe ederek bakteriyel nükleik asit sentezini inhibe eder ve antibakteriyel etkisini göstermektedirler (Pham vd., 2019).

Nükleik asit sentezini bozduğu bilinen antimikrobiyaller arasında florokinolonlar ve rifamisinler bulunmaktadır (Bockstael ve Van Aerschot, 2009). Florokinolonlar, DNA girazın (Gram negatif bakterilerde) veya topoizomeraaz IV'ün (Gram pozitif bakterilerde) aktivitesini inhibe edebildikleri için geniş bir bakterisidal spektrum aktivitesine sahiptir ve bu iki enzime bağlanarak DNA sentez yoluna müdahale etmektedirler (Abushaheen vd., 2020; Pham vd., 2019). Rifamisinlerin ise bakteriyel RNA polimerazına seçici olarak bağlanıp mRNA sentezini engellediği düşünülmektedir (Singh vd., 2021).

2.3.4. Folik Asit Metabolizmasının İnhibisyonu

Folik asit metabolizması, proteinlerin ve nükleik asitlerin (pirimidin, pürin) sentezini sağlayan çok sayıda reaksiyonda yer aldığından, tüm canlı hücrelerinin düzgün çalışmasında önemli role sahiptir (Fernández-Villa vd., 2019). Çoğu bakteride, çevrelerinden önceden oluşturulmuş folik asidi almalarını sağlayan taşıma sisteminin bulunmadığından dolayı, folik asidi sentezlemeleri gerekmektedir (Liwa ve Jaka, 2015). Bu temel süreçte yer alan enzimlerin inhibe edilmesini hedefleyen moleküller (antifolatlar), enfeksiyonların tedavisine önemli ölçüde katkıda bulunabilmektedirler (Fernández-Villa vd., 2019). Sülfonamidler, dihidropteroik asit sentaz enzimini inhibe ederken, trimetoprim dihidrofolat redüktaz aktivitesini inhibe ederek tetrahidrofolat sentezini inhibe etmektedir (Duijkeren vd., 2018; Liwa ve Jaka, 2015; Uddin vd., 2021). Bu iki ilacın kombinasyonunun, her bir ilacı tek başına kullanmaya kıyasla direnç ve azaltılmış mutasyon oranı için sinerjistik etki gösterdiği düşünülmektedir (Yoneyama ve Katsumata, 2006). Ayrıca, bu antibiyotik grubundan ikisi ayrı ayrı kullanıldıklarında bakteriyostatik etkiye sahip olmalarına rağmen kombinasyon halinde (trimetoprim-sülfametoksazol) kullanıldıklarında sinerjik bakterisidal etkiye sahiptir (Uddin vd., 2021; Yoneyama ve Katsumata, 2006).

2.3.5. Hücre Membran Fonksiyonunun İnhibisyonu

Bazı ilaç gruplarının (polimiksinler), bakteriyel içerik sızıntısına neden olan membran geçirgenliğini arttırarak etki gösterdikleri düşünülmektedir (Džidić vd., 2008; Uddin vd., 2021).

2.4. Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları

Günümüzde antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalar hem halk sağlığı hem de veteriner sağlığında çözülmesi gereken en büyük sağlık sorunlarından birisidir (OIE, 2019; WHO, 2019). Antibiyotiğe dirençli (özellikle çoklu ilaca dirençli) bakterilerin yayılmaları, ilaç seçeneklerini sınırladığı, insan ve hayvan sağlığı için risk oluşturduğu için dünya çapında endişe verici bir tehdit haline gelmektedir (Fashae vd., 2021; OIE, 2019). Antibiyotik direnci, bakterilerin normal koşullar altında üremelerini önlemeye veya öldürmeye yetecek dozda antibiyotik varlığında üremeleri ya da canlı kalma yeteneği olarak tanımlanabilmektedir (Founou vd., 2017; Sabtu vd., 2015).

Günümüzde ilaç direncinin derecesini tanımlamak için kullanılan terminolojide, *in vitro* antimikrobiyal duyarlılık testlerinden elde edilen sonuçlara göre, çoklu ilaca

dirençli, “aşırı ilaç dirençli” (“extensively drug-resistant, XDR”) ve “pan (tüm) ilaca dirençli (PDR)” kullanımını önermişlerdir. Bu tanımlamaya göre üç veya daha fazla antimikrobiyal kategoride, en az bir antimikrobiyal maddeye dirençli olan bakteri, çoklu ilaca dirençli (ÇİD) bakteri olarak tanımlanmaktadır. Bakteri izolatu yalnızca bir veya iki antibiyotik kategorisine duyarlı olduğunda, aşırı ilaca dirençli olarak tanımlanırken, pan ilaca direnç terimi tüm antimikrobiyal kategorilerdeki tüm ilaçlara dirençli olma durumunu tanımlamak için kullanılmaktadır (Magiorakos vd., 2012).

Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnci, intrinsik (doğal) direnç ve kazanılmış direnç olarak ikiye ayrılabilir. Önceki antibiyotik maruziyetinden bağımsız olarak belirli bir antibiyotik/antibiyotik sınıfına karşı bakteriyel direnç durumuna intrinsik direnç denilirken (Çiftci ve Aksoy, 2015; Duijkeren vd., 2018; Reygaert, 2018) bakterilerdeki normal genlerin mutasyona uğraması veya yabancı direnç genlerinin (bakteriler arası gen transferi yoluyla) kazanılması sonucu oluşan dirence kazanılmış antibiyotik direnci olarak tanımlanmaktadır (Harbottle vd., 2007). İntrinsik direnç, spesifik bir antibiyotik için hedef yapıların yokluğundan ya da erişilemez olmasından kaynaklanabilmektedir (Çiftci ve Aksoy, 2015; Duijkeren vd., 2018). Hücre duvarı içermeyen bakterilerde (örneğin *Mycoplasma* spp.) hücre duvarını hedefleyen antibiyotiklere karşı gösterilen direnç bu tip dirence örnek verilebilmektedir (Duijkeren vd., 2018; Schwarz vd., 2017).

Kazanılmış direnç, bakteriler arasında yatay olarak geçebilmekte olup bu da transdüksiyon (bakteriyofajların aracılık ettiği), konjugasyon (hücreden hücreye doğrudan teması ve plazmidlerin transferi) veya transformasyonla (serbest DNA alınımıyla) gerçekleşebilmektedir (Da Costa vd., 2013). Kısacası, intrinsik ve kazanılmış direncin tanımlayıcı özelliği, intrinsik direncin bakterinin cinsine veya türüne özgü bir özelliği olması, kazanılmış direncin ise suşa özgü bir özellik olmasıdır (Duijkeren vd., 2018). Farklı bakteri gruplarında kullanılan direnç mekanizmaları farklılık gösterse de permeabilitenin azaltılması, antibiyotiğin enzimatik inaktivasyonu (modifikasyon), aktif dışa atım (effluks) ve hedef bölgelerin değişmesi bakterilerin kullandıkları antibiyotik direnç mekanizmaları arasında yer almaktadır (Boerlin ve White, 2013; Reygaert, 2018).

2.4.1. Enzim İnaktivasyonu veya Modifikasyonu

Enzim inaktivasyonu veya modifikasyonu, bakterilerin grup transferi, hidroliz ve redoks süreçleri yoluyla antibiyotiklere direnç kazandığı bir mekanizmadır (Džidić vd., 2008; Varela vd., 2021). Bu direnç mekanizmasına örnek olarak en çeşitli antibiyotik

parçalayıcı enzimler olan β -laktamazlar verilebilmektedir (Džidić vd., 2008; Varela vd., 2021). β -laktamazlar, β -laktam antibiyotiklerin β -laktam halkasına bağlayıp hidrolize eden bir enzimlerdir (Liakopoulos vd., 2016a; Varela vd., 2021). Hidroliz ve grup transferi ile karşılaştırıldığında, redoks işlemi nispeten nadir görülen bir ilaç inaktivasyon mekanizması olup ilaç moleküllerinin oksidasyonu veya indirgenmesi yoluyla gerçekleşmektedir (Pulingam vd., 2022).

Enzim inaktivasyonu, aminoglikozid antibiyotiklere direncin ana nedeni olarak kabul edilmektedir (Garneau-Tsodikova ve Labby, 2016). İnaktivasyon işlemi de ilaç molekülüne asetil (asetilasyonu), adenilil (adenilasyonu) veya fosforil (fosforilasyonu) gruplarının bağlanmasıyla gerçekleşmektedir (Džidić vd., 2008). Böylece aminoglikozidlerle ilgili olarak bu işlemi katalize eden N-asetiltransferazlar (AAC), nükleotidiltransferazlar/adenililtransferaz (ANT) ve O-fosfotransferazlar (APH) dâhil olmak üzere üç tip aminoglikozid modifiye edici enzim (AME) bilinmektedir (Becker ve Cooper, 2013; Blair vd., 2015; Ramirez ve Tolmasky, 2010). Bu enzimlerin isimlendirilmesinde “enzimatik perspektif” (örneğin AAC(6')- Ia, ANT(6), APH(2'')) ve “genetik perspektif” (örneğin *aphA1*) olmak üzere iki farklı isimlendirme sistemi kullanılmaktadır (Becker ve Cooper, 2013). Genetik açıdan bakıldığında, aktivite tipini gösteren üç küçük italik kodun (*aph*, *aac*, *aad*) ardından modifikasyon bölgesini gösteren bir büyük harf (*aphA2*) kullanılmaktadır. Aktivite tipini ve modifikasyon bölgesini belirten harflerin sonunda kullanılan rakam, spesifik genlerin tanımlayıcısıdır (Becker ve Cooper, 2013; Ramirez ve Tolmasky, 2010).

ANT(2'') (*aadB* geni tarafından kodlanır) ve ANT(3'') (*aadA* geni tarafından kodlanır), *E. coli* dâhil olmak üzere Gram negatif bakterilerde yaygın olarak karşılaşılan nükleotidiltransferazdır (Poirel vd., 2018). *aadB* geni gentamisin ve kanamisine dirence neden olurken, *aadA* streptomisin direncine neden olmaktadır (Kozak vd., 2009). Ayrıca, sırasıyla *StrA* ve *StrB* tarafından kodlanan APH(3'') ve APH (6'')'nin streptomisine direnç kazandırdığı bilinmektedir. Bazen *strA* ve *strB* gen çifti (*strA-strB*) oluşturmak üzere bağlanabilmektedir (Ashenafi vd., 2014). Kanamisin ve neomisine direnç sağlayan *aphA1* ve *aphA2* ve apramisin, gentamisin ve tobramisine direnç kazandıran *aac(3)IV* genler, aminoglikozid antibiyotik direncinde rol oynadığı bilinen diğer önemli genlerdir (Kozak vd., 2009).

Genelde, AME aminoglikozidlerin ribozom bağlama aktivitesini kaybetmesine neden olmaktadır. Böylece, ilaç moleküllerin hedef bölgeye

ulaşamayacakları/bağlanamayacakları şekilde modifiye ederek ilacı etkisiz hale getirmektedirler (Lin vd., 2018; Poirel vd., 2018). Ayrıca *aac*, *ant*, and *aph* genlerin çoğu plazmidler, integronlar ve transpozonlar gibi oldukça hareketli genetik elementler üzerinde kodlandığından, direnç bakteriler arasında kolayca yayılabilmektedir (Becker ve Cooper, 2013; Duijkeren vd., 2018).

2.4.2. Permeabilitenin Azaltılması

Antibiyotiklerin çoğu etkisini gösterebilmesi için bakterinin dış zarına penetre etmesi ve hedef bölgeye ulaşması gerekmektedir (Munita ve Arias, 2016). Bu duruma engel olan permeabilitenin azaltılması, antibiyotiğin hücre içine girmesini engelleyerek hücre içi konsantrasyonunun azalmasını sağlayan diğer bir direnç kazanma mekanizmasıdır (Baylay vd., 2019). Permeabilitenin azaltılması, dış zarları birçok antibiyotiğe karşı geçirgenlik bariyeri sağladığı için Gram negatif bakterilerde yaygın direnç kazanım mekanizmasıdır (Blair vd., 2015; Delcour, 2009; Munita ve Arias, 2016). Porin proteini ile ilişkili olarak dış zar geçirgenliğinin azalması çeşitli şekillerde meydana gelebilmektedir. Örneğin porin ekspresyonunun azaltılması veya bunların daha küçük kanallar oluşturan diğer porinlerle değiştirilmesi antibiyotik direncine neden olabilmektedir (Baylay vd., 2019). Ayrıca porin kanalının geçirgenliğini değiştiren porin genlerinin mutasyonu bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığını etkileyebilmektedir (Baylay vd., 2019; Peterson ve Kaur, 2018). Dış zar bariyerini geçmek için porinleri kullanan tetrasiklinler ve β -laktamlar gibi hidrofilik ilaçlar dış zarın geçirgenliğindeki değişikliklerden etkilenen ilaçlar arasında bulunmaktadır (Munita ve Arias, 2016).

2.4.3. Aktif Dışa Atım (Effluks Pompası)

Bakteriler, belirli bir antibiyotiğin hücre dışına atımını aktif olarak artırarak hücre içindeki konsantrasyonunu azaltan dışa atım pompaları ile direnç geliştirebilmektedirler (Lin vd., 2018). Dışa atım pompaları, birçok bakterinin intrinsik direncine büyük katkıda bulunmakta olup atım pompaları aşırı ekspere edildiğinde ise tedavi etmek için kullanılmakta olan antibiyotiklere karşı da direnç kazandırabilmektedir (Baylay vd., 2019; Blair vd., 2015). Aynı şekilde, bu mekanizmayı kodlayan genler intrinsik veya kazanılmış olabilmektedir (Peterson ve Kaur, 2018). Dışa atım mekanizmaları ilaca özğü (belirli bir antibiyotik için) veya çoklu ilaca (çoklu ilaca direnç kazandıran) olabilmektedir. İlaça özğü dışa atım mekanizmaları, transpozonlar, plazmidler, ve integronlar gibi hareketli genetik elemanlar tarafından kodlanırken, çoklu ilaç atım mekanizmaları genellikle kromozom tarafından kodlanmaktadır (Butaye vd., 2003).

Örneğin, dışa atım pompalarını kodlayan tetrasikline özgü direnç genlerinin (örneğin, *tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(C)*) tetrasiklin direncinde önemli rolü olduğu bilinmektedir (Lin vd., 2018).

2.4.4. Antibiyotik Hedefindeki Değişiklik

Antibiyotiğin bağlanma bölgesine ulaşamamasına veya affinitesinin azalmasına neden olabilen hedef bölgedeki değişiklik, hedef koruma ve hedef bölgenin modifikasyonları yoluyla sağlanabilmektedir. Plazmid aracılı florokinolon direnç genleri (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*) gibi klinik olarak önemli genlerin, direnç mekanizması olarak hedef korumada yer aldığı bilinmektedir (Munita ve Arias, 2016). Bu proteinler hem DNA giraz hem de topoizomera IV'e bağlanıp florokinolonun (örneğin siprofloksasin) inhibisyon aktivitesinden korumaktadır (Jacoby, 2005). Hedef bölgenin modifikasyonuna bağlı direnç, nükleik asit sentezini hedefleyen ilaçlarda, mutasyonların DNA giraz ve topoizomera IV yapısında değişikliğe neden olduğu durumlarda oluşabilmektedir. Beta-laktam ilaçlara direnç kazandıran PBP'lerin yapısındaki ve/veya sayısındaki değişiklikler de Gram pozitif bakterilerde hedef modifikasyonuna bağlı direnç kazanım mekanizmasıdır (Reygaert, 2018).

2.5. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Rutin mikrobiyolojik tekniklerden biri olan antibiyotik duyarlılık testi (ADT), hem insan hem de hayvan sağlığında klinisyene uygun antibiyotiği seçmede rehberlik etmek ve terapötik sonuçları tahmin etmek için yapılmaktadır (Balouiri vd., 2016; Richter vd., 2020). Bakteriyel antibiyotik duyarlılığını belirlemek için genotipik ve fenotipik yöntemler bulunmaktadır ve bu yöntemler çeşitli avantaj ve dezavantajlara sahiptir (Khan vd., 2019). Genotipik yöntemlerle karşılaştırıldığında, fenotipik yöntemler antibiyotik direncini/duyarlılığını tahmin etme ve belirli bir bakterinin antibiyotiklere duyarlılık düzeyini ölçme avantajına sahiptir. Ancak yaygın fenotipik yöntemler arasında yer alan disk difüzyon ve dilüsyon yöntemleri, genotipik yöntemlerle karşılaştırıldığında, daha fazla zaman alıcıdır (Benkova vd., 2020). Genotipik yöntemlerin ana dezavantajı, duyarlılığı doğrulamak için fenotipik test gerektiren yalnızca direnç durumunu tespit etmeleridir. Ayrıca, sadece dirençle bağlantılı bilinen diziler hedeflenebildiğinden, dizileri açıklanmayan veya yeni direnç şekilleri bu yöntemlerle tespit edilememektedir (Zhang vd., 2020).

Disk difüzyonu veya Kirby-Bauer yöntemi, bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılan standardize fenotipik yöntemlerden biri olup kolaylığı ve maliyet etkinliği nedeniyle çok yaygın olarak kullanılmaktadır (Jorgensen ve Ferraro, 2009; Khan vd., 2019; Markey vd., 2013). Agar disk difüzyon yönteminde, turbidite testi ile standardize edilen test mikroorganizmasının inokülümü, agar yüzeyine inokülasyonunu takiben antibiyotik içeren disk istenilen konsantrasyonda agar yüzeyine yerleştirilip optimum koşullarda inkübe edilmektedir (Balouiri vd., 2016; Khan vd., 2019; Watts vd., 2018). İnkübasyon sırasında, antibiyotikler filtre kağıdından agar içine yayılır ve eğer etkiliyse disklerin etrafında net bir inhibisyon zonu oluşur (Behera vd., 2019). Disk etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek elde edilen ölçüler standart değerlerle karşılaştırılarak duyarlı, orta derecede duyarlı veya dirençli olarak yorumlanır (CLSI, 2020). Disk difüzyon yöntemi kullanılırken inokülüm konsantrasyonu, agar derinliği, besiyerinin pH'sı, inkübasyon koşulları gibi faktörlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Markey vd., 2013).

Disk difüzyon yönteminin kolaylığı (örneğin kolay yorumlanabilen sonuçlar sağlaması, özel ekipman gerektirmemesi) ve düşük maliyetine rağmen bazı dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin disk difüzyonu, yalnızca kalitatif sonuçlar sağladığından, belirli bir antibiyotiğin minimum inhibitör konsantrasyonunu belirlemek için uygun değildir (Balouiri vd., 2016; Behera vd., 2019). Bu testin diğer bir dezavantajı, yavaş üreyen ve fastidious bakterilerin antibiyotik duyarlılığını tespit etmede düşük performans göstermesidir (Khan vd., 2019). Ayrıca inhibisyon bölgelerini okumak için görüntü analizörleri kullanılarak yarı otomatik olabilmesine rağmen, tam otomasyon eksikliği de bu testin büyük dezavantajlardan biridir (Behera vd., 2019; Jorgensen ve Ferraro, 2009; Khan vd., 2019). Agarda ve tüpte (sıvı dilüsyon) yapılan dilüsyon testleri minimum inhibitör konsantrasyonu belirlemek amacıyla kullanılan testler de fenotipik yöntemler arasında yer almaktadır (Benkova vd., 2020). Ayrıca E-test olarak adlandırılan bir başka fenotipik test, dilüsyon ve difüzyon yöntemlerinin birleşik prensibine bağlı olup kantitatif (minimum inhibitör konsantrasyon) sonuçlar sağlamaktadır (Behera vd., 2019).

Genotipik ADT'leri söz konusu olduğunda, spesifik direnç genlerini veya genetik mutasyonları tanımlamak için moleküler amplifikasyon veya dizileme teknikleri kullanılır (Zhang vd., 2020). Günümüzde farklı antibiyotik ajanlara direnci kodlayan genlerin varlığını tespit etmek için PCR (hem konvansiyonel hem de gerçek zamanlı PCR) tabanlı genotipik yöntemler geliştirilmiştir (Benkova vd., 2020). Örneğin bir PCR

reaksiyon tüpünde birden fazla antibiyotik direnç geninin tespiti için güvenilir ve hızlı bir yöntem olan multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (mPCR), dirençli genlerin tespiti için sıklıkla kullanılmaktadır (Kozak vd., 2009; Sianglum vd., 2009).

2.6. Moleküler Tiplendirme Yöntemleri

Bakteriyel tiplendirme yöntemleri, tür/alt tür seviyesinin altındaki bakteri izolatlarını karakterize ederek izolatlar arasındaki ilişkileri değerlendirmek için kullanılan yöntemlerdir (Ruppitsch, 2016). Bu yöntemler, enfeksiyon kaynaklarının veya rezervuarlarının belirlenmesi gibi epidemiyolojik araştırmalar sırasında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca çapraz enfeksiyonları tespit etmede ve bakteri bulaşma paternlerini açıklığa kavuşturmasında önemli bir katkı sağlayabilmektedir (Ranjbar vd., 2014; van Belkum vd., 2007). Genelde, bakteriyel tiplendirilmesinin yapılmasının ana amaçları arasında bulaşıcı hastalıkların süreyansı, salgın araştırmaları ve bakteri popülasyon genetiğinin analizi yer almaktadır (van Belkum vd., 2007).

Bakterilerin suş düzeyinde tanımlanması için fenotipik ve genotipik tiplendirme yöntemleri kullanılsa da moleküler yöntemler yüksek ayırma gücü nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Li vd., 2009). Günümüzde bakteri suşlarının tiplendirilmesi için pek çok moleküler yöntem bulunmaktadır ve bu yöntemler seçilirken kullanım amacına göre performans ve uygunluk kriterleri başta olmak üzere çeşitli kriterler göz önünde bulundurulmalıdır (Ranjbar vd., 2014). Örneğin tiplendirme yöntemi, çok yakından ilişkili izolatları ayırt etmek için gereken yüksek ayırma gücüne sahip olmalıdır. Ayrıca maliyet etkinliği, hız, yüksek tekrarlanabilirlik, tiplendirebilirlik, stabilite, uygulama ve yorumlama kolaylığı da dikkat edilmesi gereken noktalardır (Sabat vd., 2013; van Belkum vd., 2007).

RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA), bakteri suş ilişkilerinin değerlendirilmesinde kullanılan ucuz ve güçlü bir moleküler tiplendirme yöntem olup şüpheli çapraz enfeksiyonun netleştirilmesi sırasında *E. coli* izolatlarının tiplendirilmesi için gereken ayırma gücüne sahip olduğu bilinmektedir (Fadel vd., 2017; Vogel vd., 2000). Bu yöntem, adından da anlaşılacağı gibi, rastgele kısa primerler kullanarak bilinmeyen genomik bölgelerin rastgele amplifikasyonu prensibe dayanır ve hedef bakterinin DNA'sı hakkında herhangi bilgi gerektirmemektedir (Fadel vd., 2017; Li vd., 2009; Sabat vd., 2013). RAPD-PCR, PFGE gibi tekniklerle karşılaştırıldığında düşük tekrarlanabilirlik ve ayırt edici güç gibi sınırlamalara sahip olsa da, düşük maliyeti, hızı ve kullanım kolaylığı nedeniyle bakteri izolatlarının tiplendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Li vd.,

2009; Sabat vd., 2013). Genellikle birçok bakteri türünün genetik çeşitliliğini incelemek için duyarlı bir yöntemdir (Li vd., 2009) ve yabani kuş kökenli *E. coli* izolatlarının genotipik ilişkilerinin değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır (Awadallah vd., 2013; Fadel vd., 2017). En sık kullanılan bakteriyel tiplendirme yöntemleri arasında yer alan PFGE, oldukça ayırt edici ve tekrarlanabilir bir altın standart yöntem olmasına rağmen, daha fazla zaman alıcı olması, özel ekipman gerektirmesi ve sonuçların yorumlanmasında deneyim gerektirmesi gibi sınırlamaları bulunmaktadır (Ranjbar vd., 2014; Sabat vd., 2013).

2.7. Yabani Kuşlarda Antibiyotik Direncinin Mevcut Durumu

2.7.1. Genel Direnç Durumu

Günümüzde, yabani kuşların, çoklu ilaca dirençli *E. coli* olası taşıyıcıları/rezervuarları olduğu artan sayıda rapor edilmektedir (Borges vd., 2017a; Islam vd., 2021a; Shobrak ve Abo-Amer, 2014). Bangladeş'te yakın zamanda yapılan bir çalışmada (Islam vd., 2021a) şaşırtıcı bir şekilde, göçmen kuşlardan izole edilen tüm *E. coli* izolatlarının (55/55) ÇİD'ne sahip olduğu bulunmuştur. Bu çalışmaya göre izolatların tamamı ampisilin ve eritromisine dirençli, streptomisin, tetrasiklin, siprofloksasin ve kloramfenikol direnci sırasıyla %74,55, %63,64, %50,91 ve %43,64 olarak bildirilmiştir. Suudi Arabistan'da yapılan bir başka çalışmanın sonuçlarına göre, göçmen kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarının %14,4'ünün (13/90) ÇİD'ne sahip olduğu tespit edilmiştir (Elsohaby vd., 2021). Tawakol ve Younes (2019) Mısır'da yaptıkları çalışmada 100 göçmen kuştan toplanan örnekleri incelemiş ve izole edilen *E. coli* izolatlarının %64'ünün ÇİD'ne sahip olduğunu bildirmişlerdir. Borges vd. (2017a) serbest yaşayan yabani kanatlılardan izole edilen *E. coli* suşlarında %47,4 oranında ÇİD bulmuşlardır. Litvanya'da yabani kanatlılarda ÇİD'ne sahip *E. coli* prevalansını ve paternini araştıran bir çalışmada, test edilen izolatların %33,5'inin ÇİD olduğu ve dirençli izolatların martılar, kuğular (*Cygnus olor*), ördekler ve kargalardan (*Corvus frugilegus*) izole edildiği bildirilmiştir (Merkeviciene vd., 2018).

Hayvan sağlığında yaygın olarak kullanılan antibiyotikler arasında yer alan ampisilin, eritromisin, siprofloksasin, gentamisin, streptomisin, tetrasiklin, florokinolonlar, kolistin ve doksisisiklin gibi ilaçlar (OIE, 2019) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO, 2019) tarafından "kritik öneme sahip antimikrobiyaller" arasında listelenen kinolon (siproflaksilin), gentamisin, sefalosporinler ve kolistin gibi antibiyotiklere, yabani kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarında direnç olduğu görülmektedir. Örneğin

Mısır'da yapılan bir çalışmada izolatlar siprofloksasin, gentamisin, streptomisin, norfloksasin, kolistin ve doksisisikline karşı sırasıyla %88, %80, %68, %40, %16 ve %4 oranında dirençli bulunmuştur (Tawakol ve Younes, 2019).

Polonya'da yürütülen daha yakın tarihli bir çalışmada, 32 yabancı kuştan izole edilen *E. coli* izolatların %31,2'sinin ÇİD olduğu bildirilmiş ve izolatların yarısının tetrasikline, %46,8'inin siprofloksasine ve %34,6'sının gentamisine dirençli olduğu bulunmuştur. Araştırmada kloramfenikol (%6,25), kanamisin (%18,7), ampisilin (%28,1) ve trimetoprim-sülfametoksazole (%34,3) karşı direnç de değişen derecelerde tespit edilmiştir (Nowaczek vd., 2021). Aynı şekilde Skarzyńska vd. (2021), aynı ülkede yaptıkları çalışmada farkı kuş türlerinden izole ettikleri 73 *E. coli* izolatının ampisiline (%41,4) ve tetrasikline (%41,4) dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca izolatların %35,7'sinin, %31,4'ünün, %28,6'sının, %22,9'unun ve %12,9'unun sırasıyla siprofloksasin, nalidiksik asit, sülfametoksazol, trimetoprim ve kloramfenikole dirençli olduğunu bulmuşlardır.

Yuan vd. (2021) tarafından, Çin'de göçmen kuşlardan izole edilen 112 adet *E. coli* izolatının antibiyotik direnç paternini değerlendirilmiş, kolistin (%10,7), kloramfenikol (%11,1), trimetoprim-sülfametoksazol (%13,8), ampisilin (%16,7) ve tetrasiklin (%22,6) direnci bildirilmiştir. Russo vd. (2021) martı (*Larus michahellis*) orijinli STEC izolatlarının, streptomisin (%3,3), gentamisin (%13,3), enrofloksasin (%16,6), trimetoprim-sülfametoksazol (%26,6), siprofloksasin (%33,3), ampisilin (%50) ve tetrasikline (%56,6) dirençli ve izolatların tamamının kloramfenikole duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Hleba vd. (2020) yabancı sülünlerden (*Phasianus colchicus*) izole edilen *E. coli* suşlarının %98,4'ünün ve %87,5'inin sırasıyla ampisilin ve tetrasikline dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı kuş türünde Slovakya ve Çek Cumhuriyeti'nde yapılan başka bir çalışmada, *E. coli* izolatlarında antimikrobiyal direnç paterni incelenmiş ve tetrasikline (%22), ampisiline, (%72) ve sefalotine (%89) karşı direnç rapor edilmiştir (Holko vd., 2019). Nehal vd. (2020) Mısır'da yapılan çalışmada, çeşitli yabancı kuşlardan izole edilen 55 *E. coli* izolatının antibiyotik direnç paternini incelemişler ve tetrasikline (%96), amoksisiline (%96), streptomisine (%85), ampisiline (%82), doksisisikline (%82), siprofloksasine (%75) ve eritromisine (%66) karşı direnç tespit edilmiştir.

Avustralya'da 562 adet martıdan alınan svap örneklerinde *E. coli* izolatlarının direnç durumunun araştırıldığı bir çalışmada (Mukerji vd., 2019), ampisilin,

siprofloksasin, seftriakson, trimetoprim-sülfametoksazol, tetrasiklin ve streptomisine karşı sırasıyla %86, %64, %62, %56, %51 ve %48 oranında direnç bildirilmiştir. Hasan vd. (2014), Bangladeş'te martılardan (*Chroicocephalus brunnicephalus*) izole ettikleri 85 adet *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılıklarını incelemişler ve izolatların ampisiline (%29,4), trimetoprim-sülfametoksazole (%24,7), nalidiksik aside (%22,4), siprofloksasine (%16,5) ve kloramfenikole (%2,4) dirençli olduğu bildirilmiştir. Veldman vd. (2013) tarafından Hollanda'da yapılan çalışmada, çeşitli yabani kuş türünden alınan 414 adet kloakal svabdan sefotaksim dirençli *E. coli*'yi araştırmışlar ve izolatların %15,7 oranında bu antibiyotiğe direnç tespit edilmiştir.

Radhouani vd. (2012) şahin'den (*Buteo buteo*) izole edilen 36 *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılık paternini analiz edip tetrasikline (%75), streptomisine (%75), ampisiline (%61,1), siprofloksasine (%50), amikasin (47,2) kloramfenikole (%41,7), trimetoprim-sülfametoksazol (%22,2) ve gentamisine (%19,4) karşı direnç bildirmişlerdir. Dolejska vd. (2007) Çek Cumhuriyeti'nde yaptıkları çalışmada karabaşlı martılardan (*Larus michahellis*) izole edilen *E. coli*'nin antibiyotik direnç durumunu araştırmış ve tetrasikline karşı nispeten yüksek direnç bildirmiştir (%19,1). Ampisilin, streptomisin, sülfonamidler, sefalotin ve kloramfenikole karşı sırasıyla %11,7, %9,3, %7,8, %4,3 ve %1,9 oranında direnç saptamışlardır.

2.7.2. Direnç Genlerin Durumu

Direnç geninin belirlenmesine ilişkin bilgiler, yabani kanatlılardan izole edilen *E. coli*'nin direnç mekanizmasının belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Hleba vd., 2020). Bu bağlamda yapılan çalışmalarda β -laktam direnç genleri, kolistin direnç genleri, tetrasiklin direnç genleri ve diğer direnç genlerini içeren çeşitli direnç genler yabani kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarında bulunmuştur (Elsohaby vd., 2021; Islam vd., 2021b; Merkevicene vd., 2018; Mohsin vd., 2016; Ruzauskas ve Vaskeviciute, 2016).

GSBL üreten bakteriler 1980'lerde ortaya çıkmaya başlasa da (Bonnet, 2004), bu enzimleri üreten *E. coli* ilk olarak 2006 yılında yabani kuşlardan izole edilmiştir (Costa vd., 2006). Bunu takiben, birçok çalışmada (Ben Yahia vd., 2018; Bonnedahl vd., 2009; Hasan vd., 2016; Hernandez vd., 2013; Islam vd., 2021b; Liakopoulos vd., 2016b; Mohsin vd., 2017; Poeta vd., 2008; Schierack vd., 2020; Söderlund vd., 2019) çeşitli yabani kuş türlerinde GSBL üreten *E. coli* bildirilmiştir.

İnsanlarda çoklu ilaca dirençli bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde son çare olarak kullanılan (Andrade vd., 2020) ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından "kritik öneme sahip antimikrobiyaller" arasında listelenen önemli bir antibiyotik olan kolistine direnç kazandıran direnç genlerini (*mcr-1* ve *mcr-2*) taşıyan *E. coli* izolatları yabani kuşlardan izole edilmiştir (Ahmed vd., 2019; Franklin vd., 2020; Mohsin vd., 2016; Ruzauskas ve Vaskeviciute, 2016; Wu vd., 2018).

Yukarıda bahsedilen direnç genlerine ek olarak, tetrasiklin direnç genleri, sülfonamid direnç genleri ve aminoglikozid direnç genleri, kloramfenikol direnç genleri ve kinolon direnç genleri gibi çeşitli ilaç direncini kodlayan genler de tespit edilmektedir (Athanasakopoulou vd., 2021; Ben Yahia vd., 2018; Hleba vd., 2020; Merkevicene vd., 2018; Yuan vd., 2021). Suudi Arabistan'da göçmen kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarının direnç paternlerini inceleyen bir çalışmada, izolatların %8,9'unda aminoglikozid direnç geni (*aac(3)-IV*), %4,4'ünde plazmid aracılı kinolon direnç (PAKD) geni (*qnrA*) ve %6,6'sında tetrasiklin direnç geni (*tet(A)*) saptanmıştır (Elsohaby vd., 2021). Göçmen kuş orijinli *E. coli* izolatların direnç geni Çin'de yapılan başka bir çalışmada (Yuan vd., 2021) da rapor edilmiştir. Araştırmada tetrasiklin [*tet(A)* (%80,5), *tet(B)* (%11,9), *tet(M)* (%6,8)], sülfonamidler [*sul1* (%6,8), *sul2* (%47,5), *sul3* (%12,7)] ve kloramfenikol [*cmlA* (%50,8), *flor* (37,3)] direnç genleri oranında rapor edilmiştir. Aynı kuş türleri (göçmen kuşlar) üzerinde yapılan başka bir çalışmada, streptomisine karşı fenotipik olarak dirençli izolatların %90,24'ünde *aadA1* geni bulunurken, tetrasikline dirençli izolatların sırasıyla %100 ve %31,43'ünde *tet(A)* ve *tet(B)* genleri bulunmuştur. Ayrıca fenotipik olarak siprofloksasine dirençli izolatlarda, *qnrA* (35,71) ve *qnrB* (%25) genleri tespit edilmiştir (Islam vd., 2021b).

Polonya'da gerçekleştirilen bir çalışmada çeşitli yabani kuşlardan izole edilen fenotopik olarak kanamisine direnç gösteren izolatların tümünde *aphA1* geni, trimetoprim-sülfametoksazole direnç gösteren izolatların %90,9'unda *sul2*, %27,2'sinde *sul3*, tetrasikline direnç gösteren izolatların %25'inde *tet(A)* geni tespit edilmiştir. Ayrıca *aadA* ve *strA/strB* düşük düzeyde tespit edilirken aminoglikozid direnç genleri (*aphA2*, *aac(3)-IV* ve *aac(3)-II*), PAKD geni (*qnr*), *tet(B)*, *catI* ve *sul1* hiçbir izolatta bulunmamıştır (Nowaczek vd., 2021). Aynı ülkede gerçekleştirilen bir başka çalışmada, aminoglikozid direnç genleri (*aac(3)-IIa*, *aac(3)-IId*, *ant(3'')-Ia*, *aph(3'')-Ib* ve *aph(6)-Id*), PAKD genler (*qnrS1* ve *qnrB19*), sülfonamid direnç genleri (*sul1*, *sul2* ve *sul3*) ve

tetrasiklin direnç genlerini [(*tet(A)* ve *tet(B)*)] dâhil olmak üzere çeşitli direnç genleri tespit edilmiştir (Skarżyńska vd., 2021).

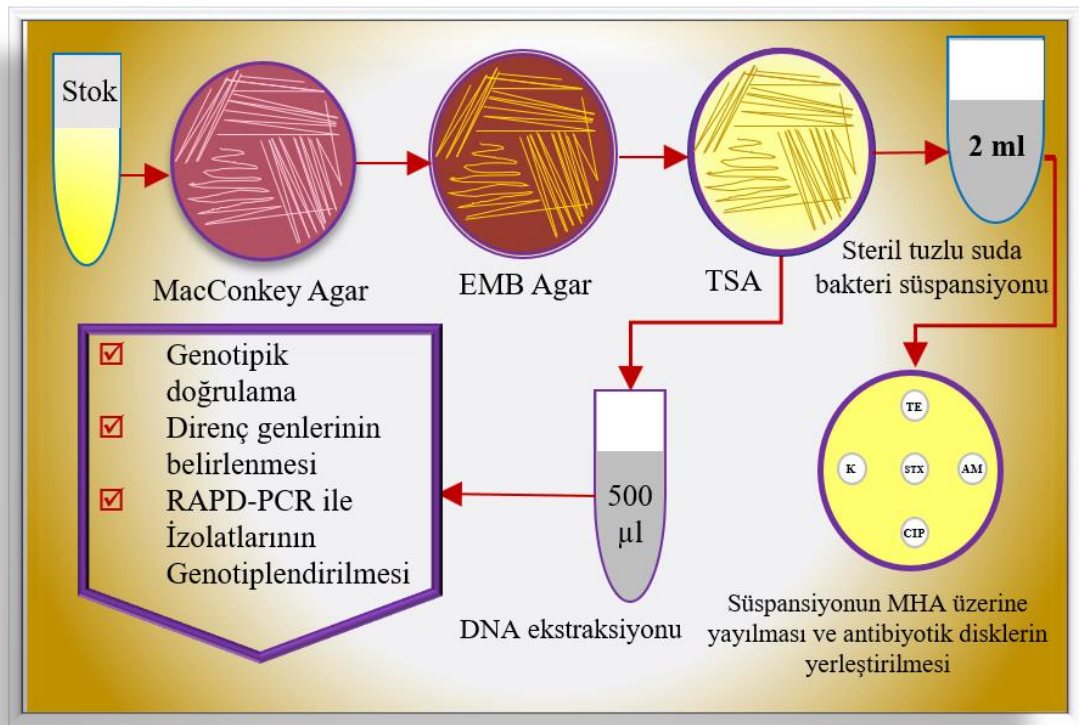
Yunanistan'da GSBL üreten *E. coli* izolatlarının direnç gen durumunu inceleyen bir başka çalışmada (Athanasakopoulou vd., 2021), fenotipik olarak duyarlı olmasına rağmen izolatın *strA*, *strB* ve *aadA4* genlerini taşıdığı bildirilmiştir. Ayrıca florokinolon (*qnrS*) ve sülfonamid (*sul1*, *sul2*) direncine neden olan genler tespit edilmiştir. Hleba vd. (2020) sülünlerden izole ettikleri *E. coli* izolatlarının *tet(A)* (%59) ve *tet(B)* (%41) direnç genlerini taşıdığını tespit etmişlerdir.

Litvanya'da Merkeviene vd. (2018) tarafından yürütülen bir başka araştırmada, farklı yabani kuş türlerinden izole edilen *E. coli* izolatlarında tetrasiklinlere (*tet(A)*, *tet(B)*), aminoglikozidlere (*aphA1*, *aacA4*, *strA*, *strB* ve *aac(3)-II*), trimetoprim (*dfr5*, *dfr7*) ve sülfonamidlere (*sul1*, *sul2*, *sul3*) karşı dirence neden olan genlerin varlığı araştırılmış ve rapor edilmiştir. Ben Yahia vd. (2018) tarafından Tunus'ta yapılan çalışmada, *bla*_{CTX-M-15} pozitif *E. coli* izolatlarının *sul3*, *qnrA1*, *qnrB*, *aac (6')-Ib-cr*, *aac(3)-II* ve *tet(A)* genlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çek Cumhuriyeti'nde yapılan başka bir çalışmada, karabaşlı martılardan (*Larus michahellis*) izole edilen izolatlardan, fenotik olarak tetrasikline dirençli olanlarda *tet(A)* (27/49), ve *tet(B)* (22/49) genleri, streptomisine direnç gösterenlerde *strA* (16/24) ve *aadA* (5/24) genleri, sülfonamide direnç gösterenlerde *sul1* (3/20) ve *sul2* (11/20) genleri ve kloramfenikole dirence gösterenlerde *cat* (5/5) genleri saptanmıştır (Dolejska vd., 2007).

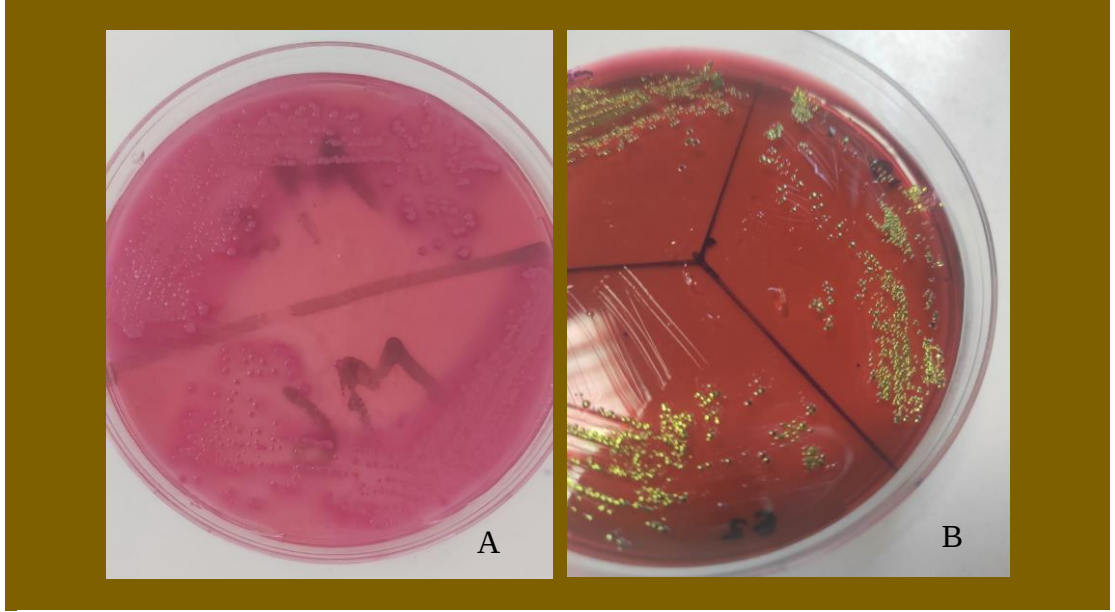
3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bakteri İzolatları ve Çalışmada İzlenen Genel Adımlar

Bu çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı kültür koleksiyonlarında bulunan martı (*Larus armenicus* (50)) ve güvercinlerden (*Columba livia* (50)) izole edilmiş ve fenotipik düzeyde *E. coli* olarak tanımlanan 100 adet *E. coli* izolatu kullanıldı. -20°C'de saklanan izolatların canlandırılması ve saflaştırılması için üreticinin belirttiği şekilde hazırlanan MacConkey Agar, EMB ve Triptik Soy Agar (TSA) kullanıldı (Şekil 3.1). *E. coli* izolatları ilk olarak MacConkey Agara (Oxoid, İngiltere) inoküle edildi ve ardından tek bir koloni alınarak EMB (Oxoid, İngiltere) agara ekim yapıldı (Şekil 3.2). Benzer bir şekilde EMB agardan tek bir koloni alınıp TSA (Oxoid, İngiltere) üzerine ekim yapıldı. Çalışma sırasında, ekim işleminden sonra besi yerleri bakteri üremesini sağlamak için 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. TSA'da üretilen koloniler, izolatların fenotipik antibiyotik direnç profilinin belirlenmesinde kullanılan bakteri süspansiyonu ve genotipik analizi sırasında kullanılan bakteri DNA'sını elde etme işleminde kullanıldı. Fenotipik antibiyotik duyarlılık testi için bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton Agar (MHA) yüzeyine yayılıp antibiyotik diskleri yerleştirildi.



Şekil 3.1. İzolatların canlandırılması ve karakterizasyonunda izlenen genel adımları gösteren akış şeması



Şekil 3.2. *E. coli*'nin MacConkey Agar (a) ve EMB besi yerindeki koloni görüntüsü (b)

3.2. DNA Ekstraksiyonu

İzolatlara ait bakteriyel DNA elde edilmesi amacıyla, TSA üzerinde üretilen saf kültür halindeki birkaç koloni seçilip 500 µl steril distile su içeren ependorf tüpünde süspanse edildi. Bunu takiben karışım vortekslenerek 100°C'de 10 dakika kaynatıldı. Kaynatma işleminden sonra süspansiyon, 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden elde edilen süpernatant, hedef DNA olarak kullanılmak üzere -20°C'de saklandı (Fadel vd., 2017; Islam vd., 2021a).

3.3. *E. coli*'nin Genotipik Doğrulaması

Fenotipik olarak tanımlanan *E. coli* izolatlarının genotipik olarak *E. coli* şeklinde tür düzeyinde doğrulanmasında Abd El-Razik vd. (2010)'nın kullandıkları protokol modifiye ve optimize edilerek kullanıldı. Bu amaçla 16S rRNA primer çifti (Eco 2083 (F): 5'-GCT TGA CAC TGA ACA TTG AG-3'; Eco 2745 (R): 5'-GCA CTT ATC TCT TCC GCA TT-3') kullanarak 662 bp'lik bantlar pozitif olarak kabul edildi. Genotipik doğrulama için 10XPCR buffer (2,5 µl), MgCl₂ (3 µl), primer (her bir primer için 0.25 µl), deoksinükleotit trifosfat (dNTP) (0,5 µl) ve *Taq* polimeraz (0,3 µl) ve 13,2 µl steril distile su içeren karışım hedef DNA (5 µl) ile toplam hacimi 25 µl olacak şekilde PCR karışımı hazırlandı. Belirlenen protokole göre oluşturulan karışım; ilk denatürasyon (95°C'de 2 dakika), 35 siklus denatürasyon (94°C'de 45sn), bağlanma (57°C'de 45 sn) ve uzama (72°C'de 45sn) ve son uzamadan (72°C'de 10 dakika) oluşan amplifikasyon işlemine tabi tutuldu.

Amplifiye edilmiş PCR ürünü yükleme boyası ile karıştırıldıktan sonra, mikropipet kullanılarak karışımdan 10 µL alınıp 2µg/ml etidyum bromür içeren agaroz jel (%1,5) kuyularına yüklendi. Bunu takiben karışım, 60 dakika boyunca 150 voltta jel elektroforezine tabi tutulup ultraviyole (UV) transillüminatör kullanılarak görüntülendi. Amplikonların boyutunu belirlemek ve hedeflenen amplikon boyutları (662 bp) oluşturup oluşturmadıklarını değerlendirmek için DNA Marker (Thermo Scientific, SM0241, 100 bp DNA Ladder) kullanıldı. *E. coli* ATCC® 25922 suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı. Hedef DNA içermeyen karışım ise negatif kontrol olarak kullanıldı.

3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

İzolatların, insan ve veteriner hekimlikte kullanılan ana antibiyotik sınıflarını temsil edecek şekilde seçilen antibiyotiklere karşı direnç paternlerinin belirlenmesinde CLSI (2020) kılavuzunda belirtilen Kirby-Bauer standart disk diffüzyon yöntem protokolü kullanıldı. Bu amaçla izolatların tetrasiklin (TE;30 µg), trimetoprim/sulfametoksazol (SXT;1,25/23,75 µg), ampisilin (AMP;10 µg), sefalotin (KF;30 µg), gentamisin (CN;10 µg), kanamisin (K;30 µg), streptomisin (S;10 µg), kloramfenikol (C;30 µg), enrofloksasin (ENR;5µg) ve siprofloksasin (CIP;5 µg) antibiyotik disklerinden (Bioanalysis, Türkiye) oluşturulan 10 farklı antibiyotiğe dirençlilik/duyarlılık durumları test edildi.

Direnç paterninin test edilmesinde, TSA üzerinde üretilerek birkaç koloni steril fizyolojik tuzlu su içinde süspanse edildi ve bulanıklık 0,5 McFarland standardına ayarlandı. Hazırlanan süspansiyonlardan 15 dakika içinde Mueller-Hinton Agar (MHA)'a yayma ekim yapıldı. Bunu takiben, antibiyotik diskleri steril forseps yardımıyla MHA yüzeyine aseptik olarak yerleştirildikten sonra gece boyunca aerobik koşullarda 37°C'de inkübe edildi. Sonuçların değerlendirilmesi sırasında sefalotin (CLSI, 2015) ve enrofloksasin (CLSI, 2018) hariç diğer antibiyotiklerin değerlendirilmesi CLSI (2020) kriterlerine göre inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek dirençli (R), orta (I) veya duyarlı (S) olarak belirlendi. Kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC® 25922 suşu kullanıldı. Üç veya daha fazla farklı antibiyotik sınıfına (≥ 3 antibiyotik gruba) dirençli bulunan bakteri izolatları, ÇİD izolatlar olarak değerlendirildi (Magiorakos vd., 2012). Direnç profili hesaplamasında, yalnızca belirli bir antibiyotiğe fenotipik direnç gösteren izolatlar dikkate alındı (orta düzeyde duyarlılık/direnç gösteren izolatlar dikkate alınmadı).

3.5. Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi

İzolatlarda antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi amacıyla, hayvan ve halk sağlığı açısından önemlerine göre seçilen antibiyotiklere dirençlilik genleri spesifik primerler kullanılarak simpleks ve multipleks PCR (mPCR) ile araştırıldı. Bu amaçla kinolon, tetrasiklin, sülfonamid ve aminoglikozidlerin antibiyotiklerin direnç genlerini belirlemek için daha önceki çalışmalarda (Cattoir vd., 2007; Kozak vd., 2009; Pławińska-Czarnak vd., 2022) belirtilen PCR protokolleri modifiye ve optimize edilerek kullanıldı (Tablo 3.1 ve Tablo 3.2). Bu kapsamda kinolon direnç genleri [*qnr(A)*, *qnr(B)* ve *qnr(S)*], tetrasiklin direnç genleri [*tet(A)*, *tet(B)* ve *tet(C)*], sülfonamid direnç genleri (*sul1*, *sul2* ve *sul3*) ve aminoglikozidlerin direnç genleri (*strA/strB*, *aac(3) IV*, *aphA1*, *aphA2* ve *aadB*) araştırıldı. Tüm PCR karışımlarında kullanılan primerler Tablo 3.2’de sunuldu.

qnr genleri için pozitif kontroller Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı) tarafından sağlandı. Diğer direnç genlerin için ise Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan *E. coli* suşlarından söz konusu genlere sahip olduğu bilinen suşlar kullanıldı. mPCR (sülfonamid direnci belirlemeye yönelik), 8,85 µl steril distile su, 10 µl hedef DNA, 2,5 µl MgCl₂, 2,5 µl 10 x PCR buffer, 0,5 µl dNTP, 0,3 µl *Taq* Polimeraz, ve Tablo 3.1’de belirtilen son primer konsantrasyonu kullanarak toplam 25 µl karışımda yapıldı. Diğer genler, simpleks PCR kullanarak araştırılmış olup PCR işlemleri Tablo 3.1’de sunulan PCR bileşenlerinin konsantrasyonu kullanarak gerçekleştirildi.

mPCR kullanılarak tespit edilen *sul1*, *sul2* ve *sul3* için PCR amplifikasyon koşulları ön denatürasyon (95°C’de 15 dk), denatürasyon (95°C’de 1 dk), bağlanma (66°C’de 1) ve uzama (72°C’de 1) olmak üzere 30 siklus ve final uzama (72°C’de 10 dk) dan oluşturuldu. PAKD genleri (*qnrA*, *qnrB* ve *qnrS*) için PCR amplifikasyon koşulları; 95°C’de 5 dakika ön denatürasyon, 95°C’de 1 dakika denatürasyon, Tablo 3.2’de belirlenen spesifik primer sıcaklığında 1 dakika bağlanma ve 72°C’de 1 dakika uzama olmak üzere 35 siklus ve 72°C’de 5 dakika final uzama şeklinde oluşturuldu. *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *strA/strB*, *aac(3)IV*, *aphA1*, *aphA2* ve *aadB*, 94°C’de 15 dakika ön denatürasyon, 94°C’de 1 dakika denatürasyon, Tablo 3.2’de belirtilen spesifik primer sıcaklığında 1 dakika bağlanma ve 72°C’de 1 dakika uzama olmak üzere 30 siklus ve son uzama 72°C’de 10 dakikadan oluşan PCR amplifikasyonuna tabi tutuldu. Amplifikasyon ürünleri, 2µg/ml

etidyum bromid içeren jel elektroforezine (%1,5 agaroz) tabi tutulup UV transillüminatör kullanılarak görüntülendi.

Tablo 3.1. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde kullanılan PCR bileşenlerinin konsantrasyonu

Hedef direnç geni	PCR Malzemesi ve Konsantrasyonu (µl)							Hedef DNA	Top lam hacim
	Steril distile su	10X PCR Buffer	MgCl2 (25 mM)	dNTP P (10 mM)	Primer Kons. (100 µM stok)		Taq Polimeraz (5 U)		
					İleri	Geri			
<i>tet(A)</i>	9,1	2,5	2,5	0,5	0,05	0,05	0,3	10	25
<i>tet(B)</i>	9,1	2,5	2,5	0,5	0,05	0,05	0,3	10	25
<i>tet(C)</i>	8,44	2,5	3	0,5	0,13	0,13	0,3	10	25
<i>qnr(A)</i>	17,15	2,5	1,5	0,5	0,025	0,025	0,3	3	25
<i>qnr(B)</i>	16,15	2,5	2,5	0,5	0,025	0,025	0,3	3	25
<i>qnr(S)</i>	17,15	2,5	1,5	0,5	0,025	0,025	0,3	3	25
<i>strA/strB</i>	13,9	2,5	2,5	0,4	0,25	0,25	0,2	5	25
<i>aac(3)IV</i>	13,6	2,5	3	0,5	0,05	0,05	0,3	5	25
<i>aadB</i>	14,54	2,5	2,5	0,2	0,03	0,03	0,2	5	25
<i>aphA1</i>	7,42	1x Master mix (12,5)			0,04	0,04	-	5	25
<i>aphA2</i>	14,55	2,5	2,5	0,2	0,025	0,025	0,2	5	25
<i>sul1</i>					0,05	0,05			
<i>sul2</i>	8,85	2,5	2,5	0,5	0,075	0,075	0,3	10	25
<i>sul3</i>					0,05	0,05			

Tablo 3.2. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler ve PCR koşulları

Antibiyotik grubu ve gen	Primer	Nükleotid sekans (5'–3')	Ürün (bp)	Bağlan ma (°C)	Kaynak
Sülfonamid					
sul1	sul1-F	CGGCGTGGGCTACCTGAACG	433	66	(Kozak vd., 2009)
	sul1-B	GCCGATCGCGTGAAGTTCCG			
sul2	sulII-L	CGGCATCGTCAACATAACCT	721		
	sulII-R	TGTGCGGATGAAGTCAGCTC			
sul3	sul3-GKa-F	CAACGGAAGTGGGCGTTGTGGA	244		
	sul3-GKa-R	GCTGCACCAATTCGCTGAACG			

Tablo 3.2. (devam)

Kinolon					
<i>qnr(A)</i>	QnrAm-F	AGAGGATTTCTCACGCCAGG	580	59	(Cattoir vd., 2007)
	QnrAm-R	TGCCAGGCACAGATCTTGAC			
<i>qnr(B)</i>	QnrBm-F	GGMATHGAAATTCGCCACTG	264	59	(Cattoir vd., 2007)
	QnrBm-R	TTTGCYGYTCGCCAGTCGAA			
<i>qnr(s)</i>	QnrSm-F	GCAAGTTCATTGAACAGGGT	428	55	(Cattoir vd., 2007)
	QnrSm-R	TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG			
Tetrasikilin					
<i>tet(A)</i>	TetA-L	GGCGGTCTTCTTCATCATGC	502	63	(Kozak vd., 2009)
	TetA-R	CGGCAGGCAGAGCAAGTAGA			
<i>tet(B)</i>	TetBGK-F2	CGCCCAGTGCTGTTGTTGTC	173	61	(Kozak vd., 2009)
	TetBGK-R2	CGCGTTGAGAAGCTGAGGTG			
<i>tet(C)</i>	TetC-L	GCTGTAGGCATAGGCTTGGT	888	58	(Kozak vd., 2009)
	TetC-R	GCCGGAAGCGAGAAGAATCA			
Aminoglikosid					
<i>strA/strB</i>	strA-F	ATGGTGGACCCTAAAACTCT	893	52	(Kozak vd., 2009)
	strB-R	CGTCTAGGATCGAGACAAAG			
<i>aac(3)IV</i>	aac4-L	TGCTGGTCCACAGCTCCTTC	653	55	(Kozak vd., 2009)
	aac4-R	CGGATGCAGGAAGATCAA			
<i>aphA1</i>	aph(3′)-Ia F	ATGGGCTCGCGATAATGTC	634	58	(Pławińska-Czarnak vd., 2022)
	aph(3′)-Ia R	CTCACCGAGGCAGTTCCAT			
<i>aphA2</i>	aphA2-L	GATTGAACAAGATGGATTGC	347	53	(Kozak vd., 2009)
	aphA2-R	CCATGATGGATACTTTCTCG			
<i>aadB</i>	aadB-L	GAGGAGTTGGACTATGGATT	208	52	(Kozak vd., 2009)
	aadB-R	CTTCATCGGCATAGTAAAAG			

M = A veya C; H = A veya C veya T; Y = C veya T

3.6. RAPD-PCR ile İzolatlarının Genotiplendirilmesi

İzolatların filogenetik yakınlıklarının değerlendirilmesi amacıyla “enterobacterial repetitive intergenic consensus-2 (ERIC-2)” primeri (5'-AAGTAAGTGAAGTGGGGTGAGCG-3') kullanılarak Versalovic vd. (1991)'nin bildirdiği yöntemle göre RAPD-PCR gerçekleştirildi. PCR reaksiyon karışımı

DNaz/RNaz'dan ari distile su (18,5 µl), 10 x PCR buffer (2,5 µl), MgCl₂ (2,5 µl), dNTP (0,5 µl), ERIC-2 primeri (0,8 µl) ve *Taq* DNA polimerazı (0,2 µl) ve hedef DNA (5 µl) içeren karışımın hacmi 30 µl'lik RAPD ana karışımı olacak şekilde ayarlandı. Amplifikasyon koşulları 94°C'de 5 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 1 dk denatürasyon, 36°C'de 1 dk bağlanma, 72°C'de 3 dk uzama döngüsünden toplam 40 döngü ve son uzama aşaması 72°C'de 7 dakika olacak şekilde ayarlandı. Amplikonların görüntülenmesi amacıyla 1XTBE buffer içerisinde %1,5'luk agaroz içeren jel hazırlandı. Amplifiye edilmiş ürünler 140V'te 80 dakika boyunca 2µg/ml etidyum bromid içeren jel elektroforezine (%1,5 agaroz) tabi tutuldu. Elektroforez işleminden sonra oluşan bantlar UV transillüminatör kullanılarak görüntülenip oluşan bantlar kaydedildi. Oluşan bantların UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages) metotunu kullanan görüntü analiz programı (Quantity one, Bio Rad) ile değerlendirmesi yapıldı ve dendrogramları çizildi.

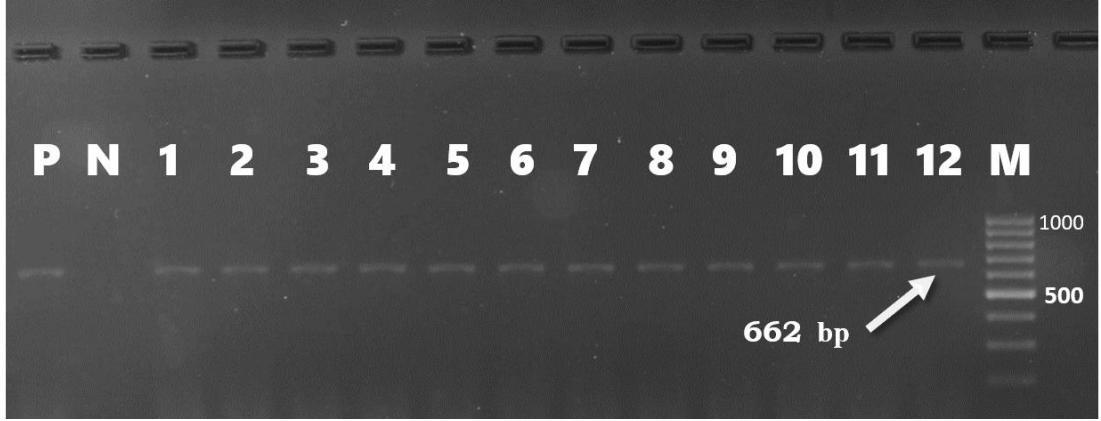
3.7. İstatistiksel Analizler

Laboratuvar sonuçlarından elde edilen verilerin tanımlayıcı analizi Microsoft Excel® ve SPSS® versiyon 26 kullanılarak yapıldı. En az bir antibiyotiğe, iki veya daha fazla antibiyotiğe, çoklu ilaca direnç gösteren izolatları ve direnç genleri taşıma açısından martı ve güvercinler arasındaki farklılıklar değerlendirmek için ki-kare testi (chi-square test, χ^2) kullanıldı. Ayrıca, spesifik antibiyotik direnç genleri ile fenotipik antibiyotik direnç ekspresyonu arasındaki ilişkileri değerlendirmek için Ki-kare testi kullanıldı. *p* değeri 0,05'ten küçük olduğunda fark/ilişki istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizi için, orta dirençli izolatlar, duyarlı suşlar ile dirençli olmayan suşlar olarak gruplandırıldı.

4. BULGULAR

4.1. *E. coli* için Genotipik Doğrulama

Fenotipik olarak karakterize edilen 100 *E. coli* izolatının PCR tabanlı genotipik doğrulaması sırasında, tüm izolatlar 662 bp bant ile bulundu ve hepsinin *E. coli* olduğu doğrulandı (Şekil 4.1).



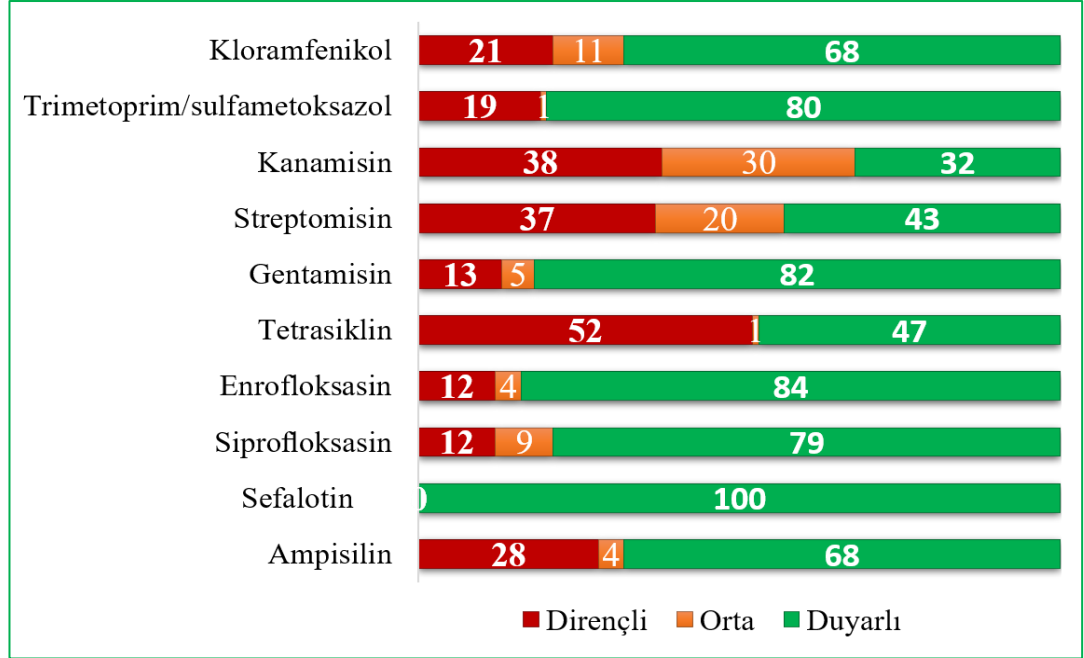
Şekil 4.1. *E. coli*'nin moleküler doğrulaması M: Marker (Thermo Scientific, SM0241, 100 bp DNA Ladder), P: Pozitif Kontrol (*E. coli* ATCC® 25922), N: Negatif Kontrol, 1-12: Pozitif İzolatlar)

4.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi

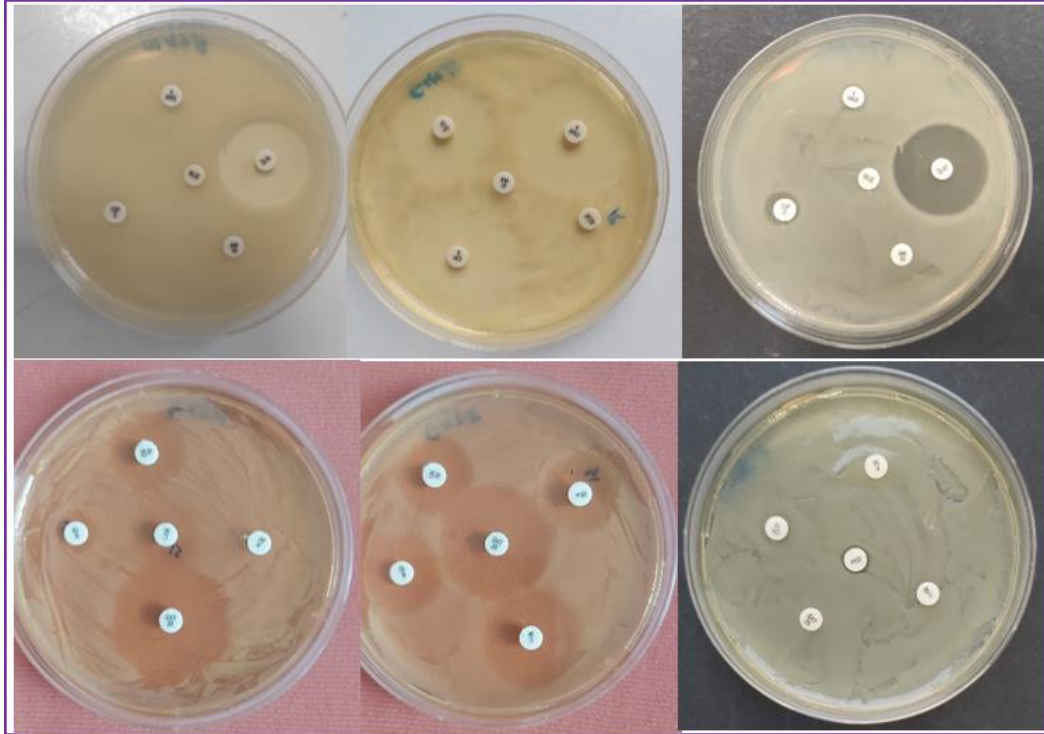
Disk difüzyon yöntemine dayalı fenotipik antibiyotik direnç analizi, *E. coli* izolatlarının %63'ünün (63/100) en az bir antibiyotiğe (≥ 1 antibiyotik) dirençli olduğunu ve %29'unun (29/100) üç veya daha fazla antibiyotik grubuna (ÇİD) dirençli olduğunu ortaya koydu. Analiz edilen 100 *E. coli* izolatının %52'si (52/100) tetrasikline, %38'i (38/100) kanamisine, %37'si (37/100) streptomisine, %28'i (28/100) ampisiline, %21'i (21/100) kloramfenikole, %19'u (19/100) trimetoprim/sülfametoksazole, %13'ü (13/100) gentamisin'e, %12'si (12/100) enrofloksasine ve siprofloksasine dirençli bulundu (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3). Öte yandan, tüm izolatların (%100) sefalotine duyarlı olduğu görüldü.

Kuş türlerine göre antibiyotik direnç durumu değerlendirildiğinde güvercin kökenli izolatlarda nispeten en yüksek direnç tetrasikline (%72) ve kanamisine (%48) karşı bulunurken, martı kökenli izolatlarda streptomisine (%34) ve trimetoprim/sülfametoksazole (%32) karşı direnç nispeten daha yüksek bulundu (Şekil 4.4). İki kuş türü arasında en az bir antibiyotiğe karşı direnç gösteren izolatları taşıma açısından karşılaştırma yapıldığında, güvercin orijinli izolatlar (42/50) ve martı (21/50) kökenli izolatlar arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$, $\chi^2 = 18,9$) bir

fark olduğu bulundu. Ancak çoklu ilaç dirençli bakteriler taşıyıcılığı açısından martılardan (16/50) elde edilen *E. coli* izolatlarında güvercin (13/50) izolatlarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p=0,50$, $\chi^2=0,43$) yüksek bir ÇİD oranı tespit edildi.



Şekil 4.2. Martı ve güvercinlerden elde edilen *E. coli* izolatlarının genel fenotipik antibiyotik duyarlılık profilleri

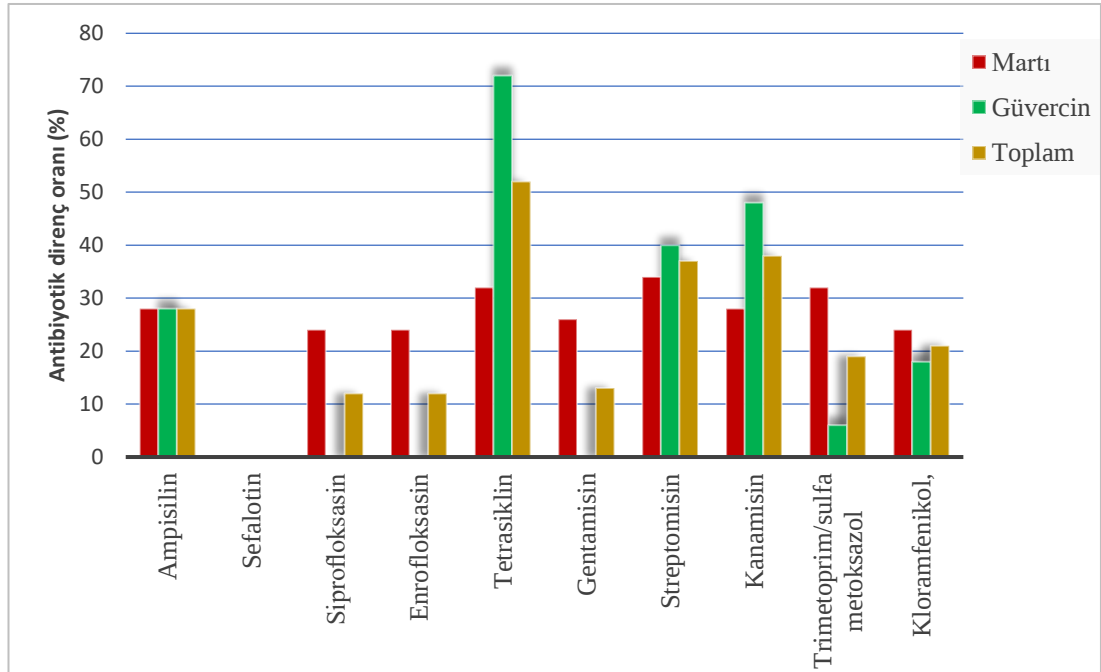


Şekil 4.3. Disk difüzyon tabanlı fenotipik antibiyotik duyarlılık test sonuçları

Tablo 4.1. Martı ve güvercin kökenli *E. coli* izolatlarının fenotipik antibiyotik direnç profili

Antibiyotik		Martı (n=50)			Güvercin (n=50)		
		R (%)	I (%)	S (%)	R (%)	I (%)	S (%)
Beta-laktam	AM	14 (28)	4 (8)	32 (64)	14 (28)	0 (0)	36 (72)
	KF	0 (0)	0 (0)	50 (100)	0 (0)	0 (0)	50 (100)
Florokinolon	CIP	12 (24)	5 (10)	33 (66)	0 (0)	4 (8)	46 (92)
	ENR	12 (24)	4 (8)	34 (68)	0 (0)	0 (0)	50 (100)
Tetrasiklin	TE	16 (32)	0 (0)	34 (68)	36 (72)	1 (2)	13 (26)
	CN	13 (26)	2 (4)	35 (70)	0 (0)	3 (6)	47 (94)
Aminoglikozid	S	17 (34)	4 (8)	29 (58)	20 (40)	16 (32)	14 (28)
	K	14 (28)	20 (36)	16 (32)	24 (48)	10 (20)	16 (32)
Folat antagonisti	SXT	16 (32)	1 (2)	33 (66)	3 (6)	0 (0)	47 (94)
Fenikol	C	12 (24)	1 (2)	37 (74)	9 (18)	10 (20)	31 (62)

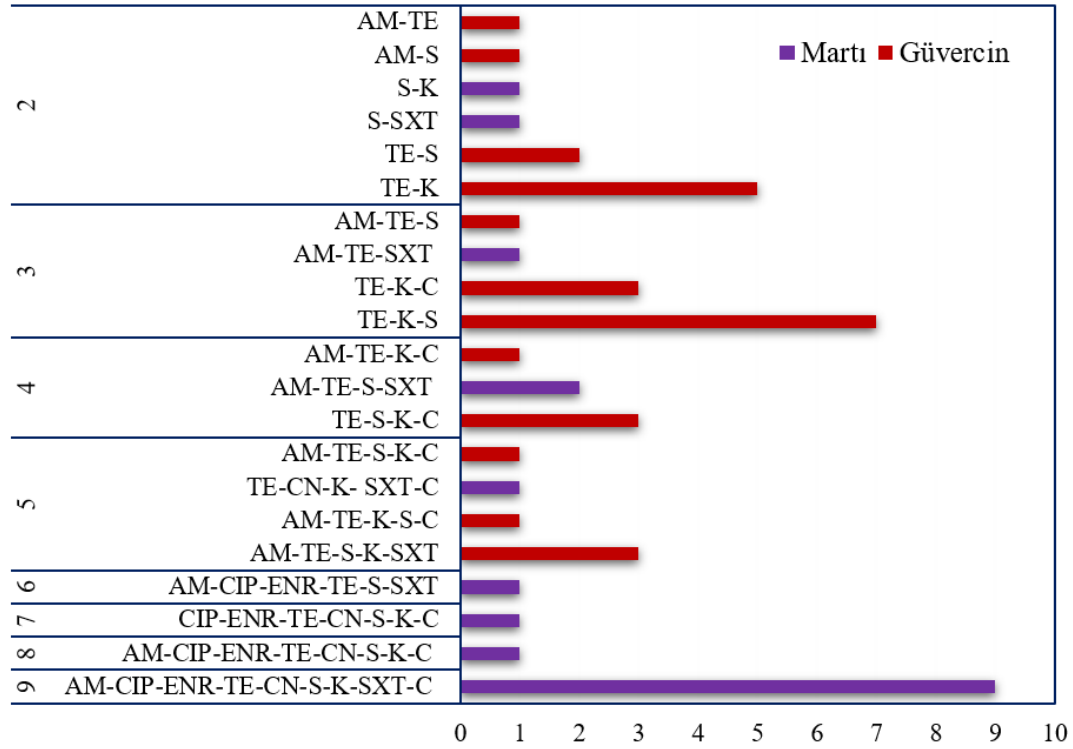
AM: ampisilin, ENR: enrofloksasin, CN: gentamisin, K: kanamisin, C: kloramfenikol, CIP: siprofloksasin, S: streptomisin, KF: sefalotin TE: tetrasiklin, SXT: trimetoprim/sulfametoksazol



Şekil 4.4. Yabani kuş türlerine göre *E. coli* antibiyotik direnç profili

Martı orijinli dokuz izolat, sefalotin hariç test edilen tüm antibiyotiklere direnç gösterdi. Dolayısıyla tetrasiklin, trimetoprim/sülfametoksazol, streptomisin, siprofloksasin, kloramfenikol, kanamisin, gentamisin, enrofloksasin ve ampisilin kombinasyonu, en yüksek ≥ 2 antibiyotik direnç fenotipleriyle sonuçlandı. İkinci sık karşılaşılan ≥ 2 antibiyotik direnç profili güvercin kökenli 7 izolatta saptanan tetrasiklin, kanamisin ve streptomisin kombinasyonudur. Ayrıca güvercin kökenli 5 izolatta tetrasiklin ve kanamisine ≥ 2 antibiyotik direnci gözlemlendi (Şekil 4.5). İki veya daha fazla antibiyotiğe direnç gösteren izolatlar taşıma açısından iki kuş türü

karşılaştırıldığında, güvercin kökenli izolatlarda istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,028$, $\chi^2=4,85$) derecede daha yüksek direnç yüzdesi bulundu.



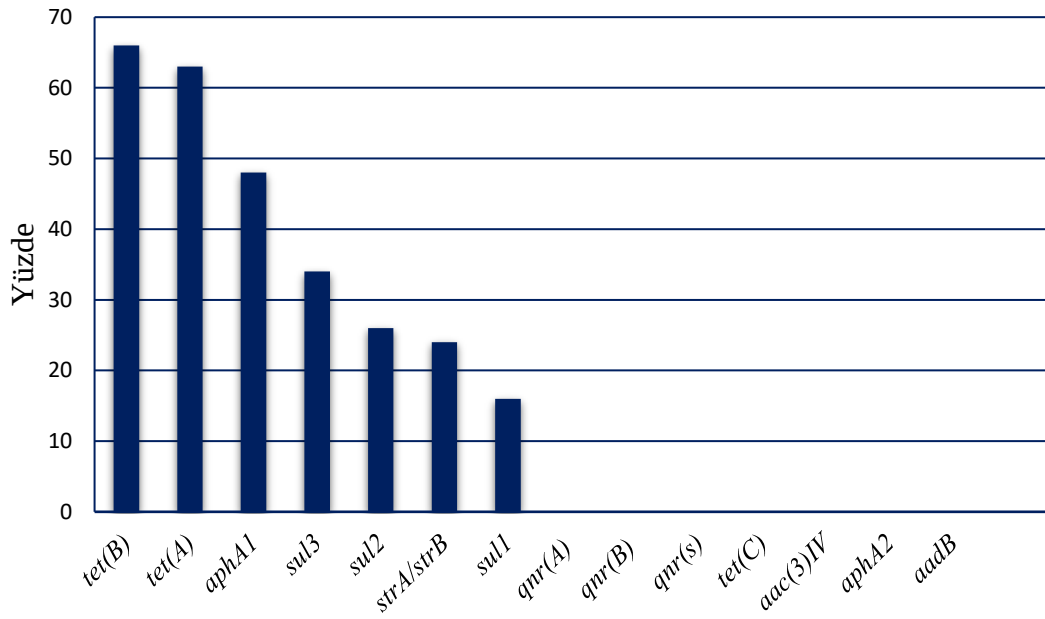
Şekil 4.5. Martı ve güvercinlerden elde edilen *E. coli* izolatlarının ≥ 2 antibiyotik etkenine direnç profili
AM: ampisilin, ENR: enrofloksasin, CN: gentamisin, K: kanamisin, C: kloramfenikol, CIP: siprofloksasin, S: streptomisin, KF: sefalotin TE: tetrasiklin, SXT: trimetoprim/sulfametoksazol

4.3. Antibiyotik Direnç Genleri

100 adet *E. coli* izolatının 46'sının (% 46) incelenen sülfonamid direnç genlerinden bir veya daha fazlasını taşıdığı bulundu. *sul1*, *sul2* ve *sul3* izolatların sırasıyla %16, %26 ve %34'inde tespit edildi (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). Sülfonamid direnç genlerinin çoğu kombinasyon halinde bulundu. *sul1*, *sul2* ve *sul3* (10 izolatta), *sul2* ve *sul3* (6 izolatta) ve *sul1* ve *sul2* (4 izolatta) genler birlikte tespit edildi. İki kuş türü karşılaştırıldığında, martı izolatlarında (%26) güvercin izolatlarına (%6) göre *sul1* gen yüzdesi anlamlı ($p=0,006$) olarak daha yüksek bulundu (Tablo 4.2). Buna karşılık, *sul3* gen yüzdesi güvercin izolatlarında (%52) martı izolatlarından (%16) önemli ölçüde ($p<0,001$) daha yüksek olarak bulundu. Ancak martı ve güvercin orijinli izolatların sırasıyla %30 ve %22'sinde saptanan *sul2* geninin durumunda iki kuş türü arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p=0,362$).

Tetrasiklin direnç belirleyicileri ile ilgili olarak izolatların %63'ünde *tet(A)* ve %66'sında *tet(B)* saptandı (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Güvercin izolatlarında *tet(A)*

geninin yüzdesi *tet(B)* geninden daha yüksek olarak tespit edildi. Buna karşılık, martı kökenli izolatlarda *tet(B)* geninin yüzdesi *tet(A)* geninin yüzdesinden daha yüksek bulundu. İki kuş türünün karşılaştırılması sırasında güvercin izolatlarında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,001$) derecede daha yüksek bir *tet(A)* geni yüzdesi elde edildi (Tablo 4.2). Aminoglikozid direnç belirleyicileri arasında yer alan *strA/strB* (%24) ve *aphA1* (%48) (Şekil 4.10) hem martı hem de güvercin izolatlarında tespit edildi. İki kuş türü karşılaştırıldığında, martı izolatlarında (%42) *strA/strB* gen taşıma yüzdesi güvercin izolatlarına (%6) göre anlamlı ($P < 0,001$) olarak daha yüksek bulundu (Tablo 4.2).

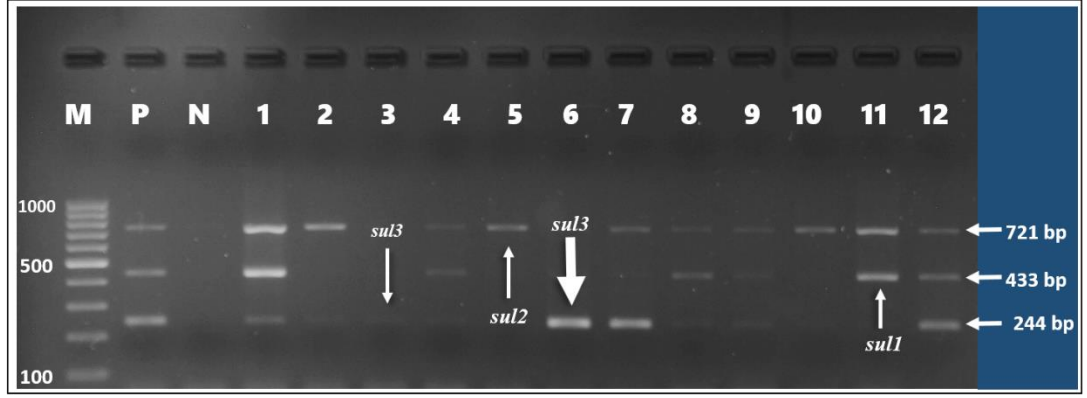


Şekil 4.6. Martı ve güvercin kaynaklı *E. coli* izolatlarının genotipik antibiyotik direnç profili

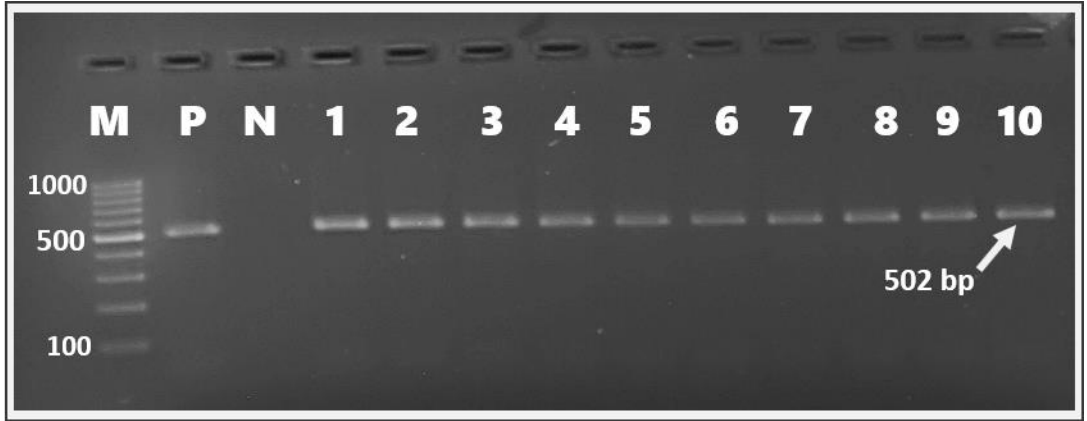
Tablo 4.2. Antibiyotik direnç genlerine sahip *E. coli* izolatlarını taşıma açısından martı ve güvercinlerin karşılaştırılması

İlaç grubu ve direnç genleri		Direnç genini taşıyan izolat sayısı (%)		χ^2	P-diğeri
		Martı (n=50)	Güvercin (n=50)		
Tetrasikilin	<i>tet(A)</i>	23 (46)	40 (80)	12,39	<0,001
	<i>tet(B)</i>	35 (70)	31 (62)	0,71	0,398
Aminoglikozit	<i>strA/strB</i>	21 (42)	3 (6)	17,76	<0,001
	<i>aphA1</i>	18 (36)	30 (60)	5,76	0,016
Sülfonamidler	<i>Sul1</i>	13 (26)	3 (6)	7,44	0,006
	<i>Sul2</i>	15 (30)	11 (22)	0,83	0,362
	<i>Sul3</i>	8 (16)	26 (52)	14,44	<0,001

χ^2 =ki-kare testi



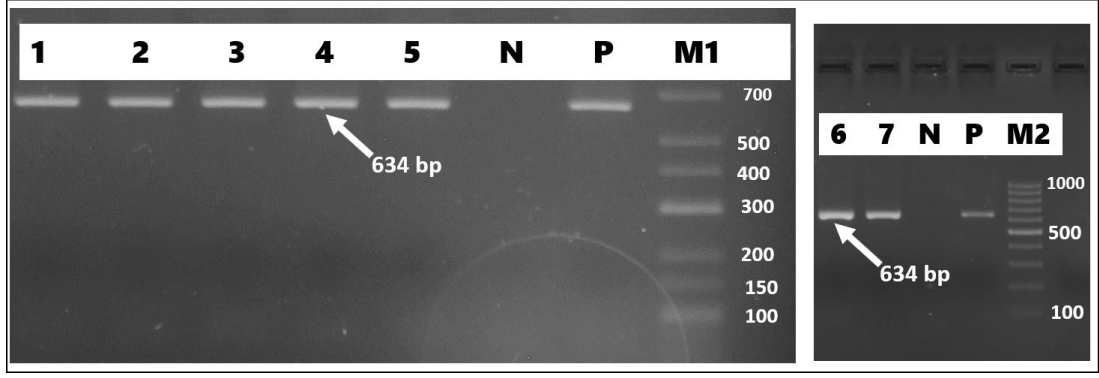
Şekil 4.7. Sülfonamid direncine neden olan *sul1* (433 bp), *sul2* (721 bp) ve *sul3* (244 bp) genlerinin mPCR ile belirlenmesi (M: Marker (Thermo Scientific, SM0241, 100 bp DNA Ladder), P: Pozitif Kontrol, N: Negatif Kontrol, 1,4, 8, 9, 12: *sul1*, *sul2* ve *sul3*), 2 ve 7: *sul2* ve *sul3*, 3 ve 6: *sul3*, 5 ve 10: *sul2*, 11: *sul1* ve *sul2*)



Şekil 4.8. Simpleks PCR kullanılarak tespit edilen tetrasiklin *tet (A)* direnç geni (M: Marker (Thermo Scientific, SM0241, 100 bp DNA Ladder), P: Pozitif Kontrol, N: Negatif Kontrol, 1-10: Pozitif İzolatlar)

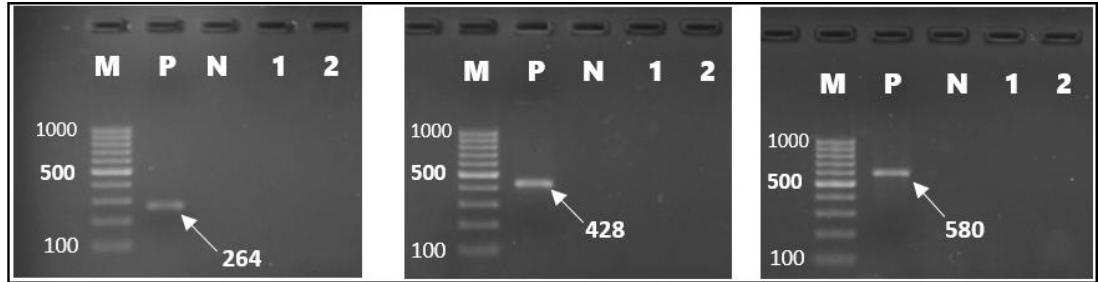


Şekil 4.9. Simpleks PCR kullanılarak tespit edilen tetrasiklin *tet (B)* direnç geni (M: Marker (Thermo Scientific, SM0241, 100 bp DNA Ladder), P: Pozitif Kontrol, N: Negatif Kontrol, 1-9: Pozitif İzolatlar)



Şekil 4.10. Kanamisin direncine neden olan *aphA1* geninin PCR ile belirlenmesi (M1:marker (Fermentas, SM1191, 100 bp DNA Ladder), M2: Marker (Thermo Scientific, SM0241, 100 bp DNA Ladder) P: Pozitif Kontrol, N: Negatif Kontrol, 1-7: Pozitif İzolatlar)

Öte yandan araştırılan direnç genleri arasında tetrasikiline direnç kazandıran *tet(C)* geni, PAKD gen belirleyicileri (*qnr(A)*, *qnr(B)* ve *qnr(s)*) ve bazı aminoglikozid modifiye edici enzim belirleyicileri (*aphA2*, *aadB* ve *aac(3) IV*) izolatların hiçbirinde bulunmadı. Şekil 4.11, plazmid aracılı florokinolon direnç belirleyicilerinin belirlenmesi için PCR amplikonlarının agaroz jel elektroforezine tabi tutulmasından sonra elde edilen negatif sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.11. Kinolon direncine neden olan *qnrA* (580 bp), *qnrB* (264 bp) ve *qnrS* (428 bp) genlerinin PCR ile belirlenmesi M:marker (Thermo Scientific, SM0241, 100 bp DNA Ladder), P: Pozitif Kontrol, N: Negatif Kontrol, 1 ve 2: Negatif İzolatlar)

4.4. Fenotipik ve Genotipik Direnç Profili Arasındaki İlişki

Fenotipik ve genotipik direnç profilleri arasındaki korelasyona bakıldığında fenotipik olarak streptomisine dirençli olan 37 adet *E. coli* izolatından 16'sının (%43,24) *strA/strB* genini taşıdığını ve bu genin taşınmasının streptomisinin fenotipik direnci ile önemli ölçüde ($p=0,001$, $\chi^2= 11,92$) ilişkili olduğu bulundu. Benzer şekilde kanamisine dirençli izolatların %81,57'sinde (31/38) saptanan *aphA1* gen taşıyıcılığı ve kanamisin direnci arasında anlamlı bir ilişki ($p<0,001$, $\chi^2= 27,68$) bulundu. Ayrıca kanamisine orta düzeyde fenotipik direnç gösteren 9 adet *E. coli* izolatının *aphA1* geni taşıdığı bulundu. Böylece tespit edilen 48 adet *aphA1* geninden kanamisine dirençli

izolatlarda 31 adet bulunurken diğerler kanamisine orta derecede dirençli (9) ve duyarlı (8) olan izolatlarda bulundu.

Tetrasiklin direnci ve genetik direnç belirleyicileri arasındaki ilişki ile ilgili olarak, tetrasikline dirençli izolatların sırasıyla %84,61 (44/52) ve %76,92'sinde (40/52) tespit edilen *tet(A)* ve *tet(B)* taşıyıcılığı ile tetrasiklin direnci arasında anlamlı bir ilişki ($p<0,05$) bulundu. Tetrasikline fenotipik olarak direnç gösteren tüm *E. coli* izolatlarında *tet(A)*, *tet(B)* ya da her ikisi kombine halde tespit edildi. Ayrıca fenotipik olarak trimetoprim/sülfametoksazole dirençli izolatların sırasıyla %47,3'ünün (9/19), %68,4'ünün (13/19) ve %36,8'inin (7/19) *sul1*, *sul2* ve *sul3* geni taşıdığı bulundu. Fenotipik direnç ekspresyonuna rağmen, bazı *E. coli* izolatlarında direnç genleri (örneğin, florokinolon ve gentamisin) saptanmadı. Öte yandan, direnç genleri taşıdığı bulunan ancak fenotipik direnç göstermeyen bazı izolatlara da rastlanıldı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Martı ve güvercin orijinli *E. coli* izolatlarının fenotipik ve genotipik antibiyotik direnç profilleri arasındaki ilişki

İlaç grubu ve direnç genleri		Direnç genini taşıyan izolat sayısı		χ^2	P-değeri
		Dirençli ^a	Dirençli olmayan ^b		
Tetrasiklin	<i>tet(A)</i>	44 (%84,61)	19 (%39,5)	21,71	<0,001
	<i>tet(B)</i>	40 (%76,92)	26 (%54,16)	5,76	0,016
Streptomisin	<i>strA/strB</i>	16 (%43,24)	8 (%12,69)	11,92	0,001
Kanamisin	<i>aphA1</i>	31 (%83,73)	17 (%27,42)	27,68	<0,001

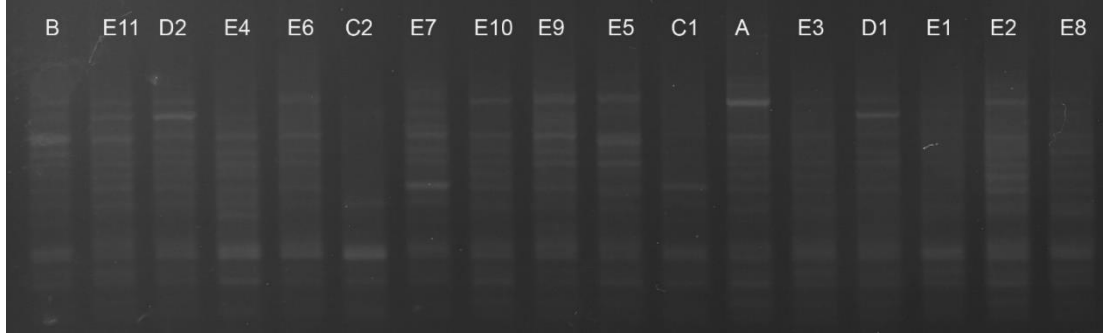
a: söz konusu antibiyotiğe fenotipik olarak direnç gösteren ve direnç gen(ler)i taşıyan izolatlar, b: söz konusu antibiyotiğe fenotipik olarak duyarlı veya orta derecede direnç gösteren ama direnç gen(ler)i taşıyan izolatlar, χ^2 =ki-kare testi

4.5. RAPD-PCR ile İzolatlarının Genotiplendirilmesi

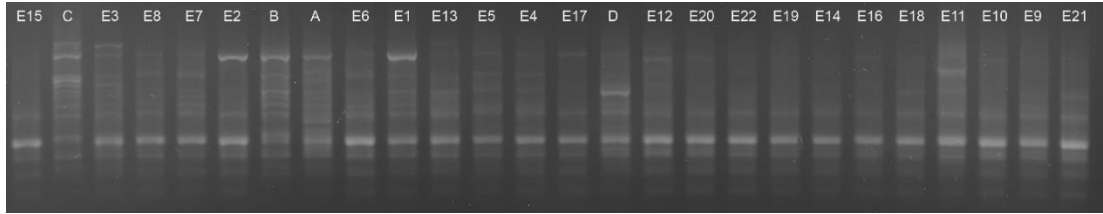
İzolatların filogenetik yakınlıklarının belirlenmesi amacıyla yapılan RADP-PCR sonrasında elde edilen bantlar (Şekil 4.12 ve Şekil 4.13) UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages) metotunu kullanan görüntü analiz programı ile değerlendirildi ve dendrogramları çizildi (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15).

Dendrogramın değerlendirmesi sonucunda güvercin izolatu *E. coli* suşlarının %47-100 arasında benzerlik gösterdiği belirlendi. Genotiplendirme amacıyla da %70 benzerlik eşik değeri temel alınarak 2 tekli (RGA, RGB) ve 3 çoklu (RGC, RGD, RGE) genotip belirlendi (Şekil 4.12). Çoklu genotiplerden RGC'nin 3, RGD'nin 5 ve RGE'nin de 31 izolatu içerdiği saptandı.

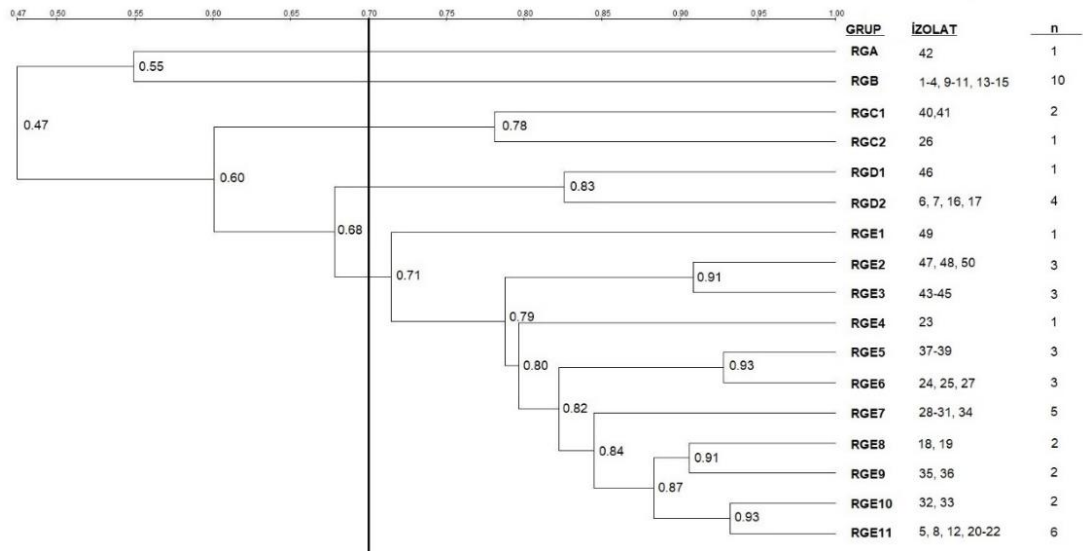
Martı izolatu *E. coli* suşlarının %40-100 arasında benzerlik gösterdiği belirlendi. Genotiplendirme amacıyla da %70 benzerlik eşik değeri temel alınarak 4 tekli (RMA, RMB, RMC, RMD) ve 1 çoklu (RME) genotip belirlendi (Şekil 4.15). Çoklu genotiplerden RME'nin 41 izolatu içerdiği saptandı.



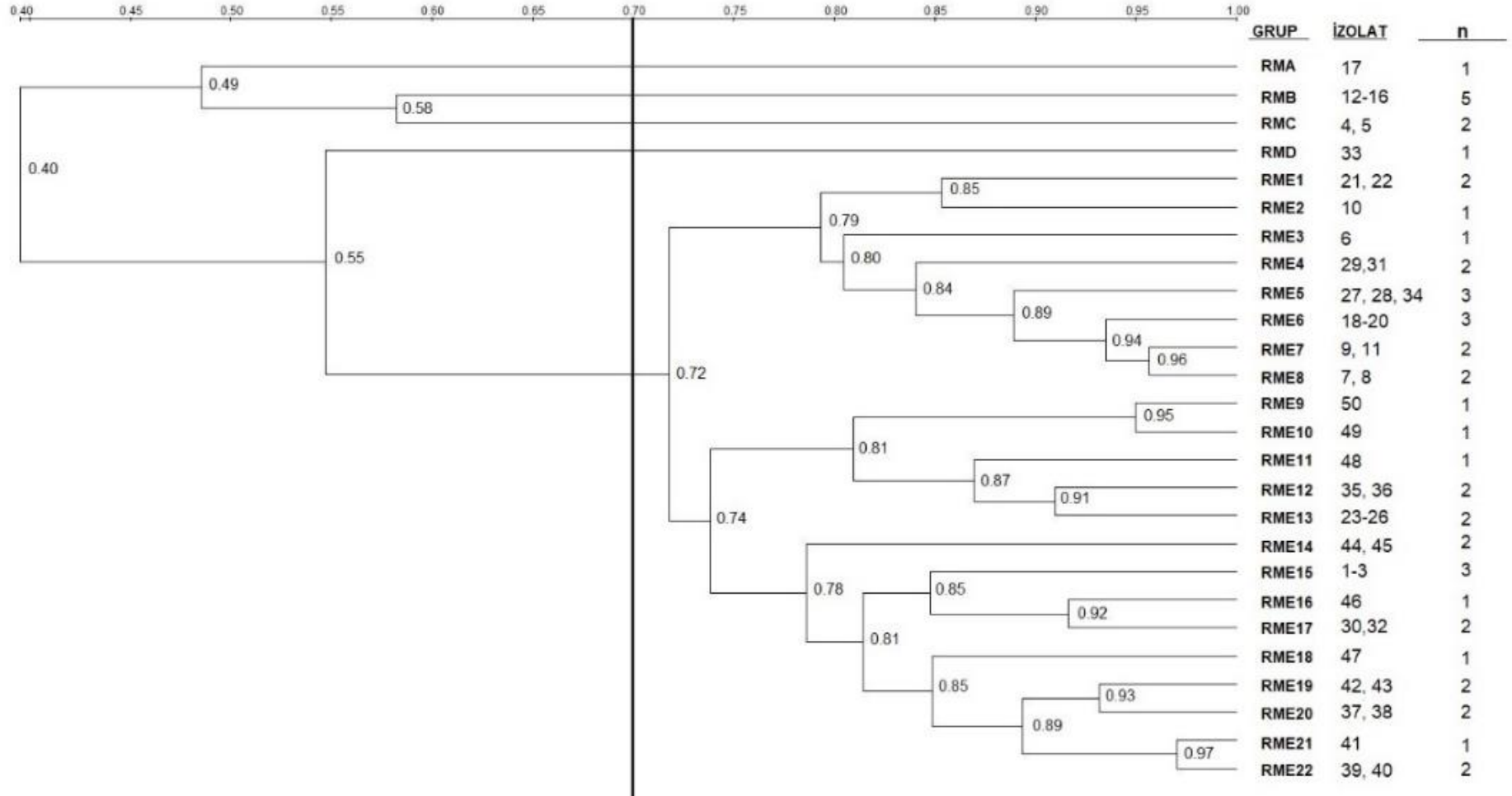
Şekil 4.12. Güvercin izolatu *E. coli* suşlarının RAPD-PCR görüntüsü



Şekil 4.13. Martı kökenli *E. coli* suşlarının RAPD-PCR görüntüsü



Şekil 4.14. Güvercin izolatu *E.coli* suşlarının izolatlarının filogenetik analizi



Şekil 4.15. Martı izolatu *E. coli* suşlarının izolatlarının filogenetik analizi

5. TARTIŞMA

Antibiyotik direnci, çok sektörlü eylem gerektiren hem hayvan hem de insan sağlığında gittikçe artan küresel bir sorundur (OIE, 2019; WHO, 2021). Yakın tarihli bir çalışma (Murray vd., 2022), 2019'da 1,2 milyondan fazla insanın küresel ölümünü antimikrobiyal dirençli bakterilere bağlamıştır. Günümüzde antimikrobiyal direnç, insanların karşı karşıya olduğu en büyük küresel halk sağlığı tehditleri arasında sayılmakta (WHO, 2021) olup uygun önlemler alınmadığı takdirde yükünün de artarak 2050 yılına kadar yılda yaklaşık 10 milyon insanın ölümüne neden olacağı tahmin edilmektedir (O'Neill, 2016). Bu nedenle, artan küresel antibiyotik direnciyle ilişkili potansiyel riskleri azaltmak için direnç geni kaynakları ve vektörleri dâhil olmak üzere antibiyotik direnç durumlarının daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç olduğu çok açıktır (Skarżyńska vd., 2021; Zhao vd., 2020).

Günümüzde dünyanın farklı yerlerinde yabani kanatlılardan izole edilen enterik patojenlerde çoklu antibiyotik direncinin görülmesinde ciddi şekilde artış görülmektedir (Borges vd., 2017a; Islam vd., 2021a). Yabani kuşlar, insan faaliyetinin çevre üzerindeki etkisini yansıtan, antibiyotiğe dirençli bakterilerle çevresel kontaminasyonun biyolojik göstergeleri (biyoindikatör) olarak kabul edilebilmektedir (Bonnedahl ve Järhult, 2014; Hasan vd., 2014; Radhouani vd., 2012; Russo vd., 2021; Veldman vd., 2013). Ayrıca, yabani kuşların göç etmeleri sebebi ile, dirençli bakterilerin rezervuarı olarak antibiyotiklere karşı kazanılmış dirençli bakteriler uzun mesafelere (hatta kıtalar arası) yayılabilmektedir (Ahlstrom vd., 2021). Bu durum, artan antibiyotik direnci sorunu ile birlikte ele alındığında, günümüzde bu alandaki bilimsel araştırmalara olan ilgi artırmış görülmektedir (Ahlstrom vd., 2021; Elsohaby vd., 2021; Höfle vd., 2020; Islam vd., 2021a; Nowaczek vd., 2021; Russo vd., 2021; Skarżyńska vd., 2021; Velhner vd., 2021; Yuan vd., 2021).

Bu tez çalışmasında, insanlarla yakın temas halinde olan martı ve güvercinlerden izole edilen *E. coli* izolatlarının fenotipik ve genotipik antibiyotik direnç paternleri araştırıldı. Fenotipik antibiyotik direnç testinin sonuçlarına göre, tetrasiklin (%52), kanamisin (%38) ve streptomisine (%37) karşı daha yüksek bir antibiyotik direnci gözlemlendi. Değerlendirilen izolatların %63'ü ≥ 1 antibiyotiğe dirençli bulunurken, %29'u çoklu ilaca dirençli bulundu. Benzer bir sonuç, Polonya'dan %31,2 çoklu ilaca dirençli *E. coli* izolatı bildiren Nowaczek vd. (2021) tarafından rapor edilmiştir. Litvanya'da martılar dâhil olmak üzere çeşitli yabani kanatlılarda ÇİD'e sahip *E. coli* durumunu

belirleyen bir çalışmada (Merkeviciene vd., 2018) izole edilen *E. coli* suşlarının %33,5'inin ÇİD'ne sahip izolat olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, dünyanın farklı bölgelerinde %60-%100 (Atterby vd., 2017; Barguigua vd., 2019; Islam vd., 2021a; Mohamed-Yousif vd., 2019; Tawakol ve Younes, 2019) arasında değişen yüksek bir ÇİD oranı ve %20'nin altında (Carroll vd., 2015; Dolejska vd., 2007; Elsohaby vd., 2021; Hasan vd., 2014; Horn vd., 2018) olan ÇİD oranı bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Çoklu ilaç direncindeki farklılıkların, kuş türlerinin orijinlerinin farklılık göstermesinden, temasta olduğu diğer canlıların farklılık göstermesinden ve coğrafi konum farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Tez çalışmasındaki ÇİD'ne sahip izolatların taşıyıcısı olması açısından iki farklı yabani kuş türü değerlendirildiğinde; martıların (%32) güvercinlere göre (%26) anlamlı olmayan ($p>0,05$) daha yüksek bir direnç yüzdesine sahip olma eğiliminde olduğu fakat en az bir antibiyotiğe dirençli izolatları taşıma açısından martı (%42) ve güvercinler (%84) arasında anlamlı ($p<0,001$, $\chi^2=18,91$) farklılık gözlemlendi. Antibiyotik çeşitliliği açısından martı kökenli izolatlar sefalotin dışında test edilen tüm antibiyotiklere karşı direnç gösterirken, güvercin kökenli izolatlarda tetrasiklin, kanamisin, streptomisin, ampicilin, kloramfenikol ve trimetoprim/sülfametoksazole direnç gözlemlendi. İki kuş türü arasında gözlemlenen ÇİD ve bir veya birden fazla antibiyotiğe direnç gösteren bakteri taşıma farklılıkları, ilgili kuşların beslenme davranışlarına, insanlara ve antropojenik olarak etkilenen habitatlara yakınlığına bağlanabilmektedir (Ramey vd., 2018; Ramey ve Ahlstrom, 2020). Ancak incelenen kuş türleri arasında saptanan farklılıklara katkıda bulunan dirençli bakterilerin kaynağının aydınlatılabilmesi için, söz konusu kuş türlerinin beslenme alışkanlıkları ile dirençli bakterilerin saptanma olasılığı arasındaki ilişkileri ortaya koyan daha ayrıntılı moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu araştırmanın bulgularıyla uyumlu olarak Türkiye'de hobi olarak yetiştirilen güvercinlerden (*Columba livia domestica*) izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç profilini araştırarak yakın tarihli bir çalışmada (Aslantaş ve Gövce, 2020) bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç oranı %80,3 olarak bildirilmiştir. Bangladeş'te gerçekleştirilen bir çalışmada (Hasan vd., 2014) da bu çalışmada martı kökenli *E. coli* izolatlarında bulunan bulgularla uyumlu olarak bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç %42,3 oranda bildirilmiştir. Brezilya'da yapılan bir çalışmada (Horn vd., 2018), yabani güvercinlerden (*Columba livia*) izole edilen *E. coli*

izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri değerlendirilip izolatların %28,18'inin bir veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olduğu bulunmuştur. Martı kökenli *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç profilini dokuz Avrupa ülkesinde değerlendiren bir çalışmada (Stedt vd., 2014), Letonya'da (Daugava'da) %42, İsveç'te %17,7, Polonya'da %21,3, İngiltere'de %44,1 ve İspanya'da (Mazzaron'da) %67,1 oranında bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç olduğu bildirilmiştir. Portekiz'de yapılan bir araştırmada, şahinlerden (*Buteo buteo*) izole edilen 36 adet *E. coli* izolatından 35'inin bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç gösterdiği rapor edilmiştir (Radhouani vd., 2012). Bu çalışmaların sonuçlarından da anlaşılabileceği gibi yabancı kanatlılardan antibiyotiğe dirençli *E. coli* izolatlarının tespit etme oranları yabancı kuşların türüne ve coğrafi konuma göre değişiklik gösterebilmektedir.

Farklı ülkelerde yapılan önceki çalışmalar, yabancı kuş kökenli *E. coli* izolatlarının tetrasikline karşı nispeten yüksek derecede direnç gösterdiğini bildirmiştir (Nabil vd., 2020; Nowaczek vd., 2021; Radhouani vd., 2012; Russo vd., 2021; Yuan vd., 2021). Bu çalışmada değerlendirilen izolatların fenotipik direnç profilleri incelendiğinde, tetrasikline (%52) karşı nispeten daha yüksek derecede direnç olduğu bulundu. Bu sonuç farklı yabancı kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarında Polonya (%50), Avustralya (%51), Brezilya (%52,6) ve İtalya'da (%56) tetrasiklin direnci bildiren yakın tarihli çalışmalar (Borges vd., 2017a; Mukerji vd., 2019; Nowaczek vd., 2021; Russo vd., 2021) ile uyumludur. Diğer yandan tez çalışmasında bulunan tetrasiklin direnci oranı, Carroll vd. (2015) (%5,4), Horn vd. (2018) (%10,91) ve Stedt vd. (2014) (%19) tarafından bildirilen sonuçlarla karşılaştırıldığında yüksek görünmektedir. Ancak dünyanın farklı yerlerinde yürütülen başka çalışmalarda, çok çeşitli yabancı kuş türlerinde %80-%100 arasında değişen yüksek oranda tetrasiklin direnci olduğu bildirilmiştir (Barguigua vd., 2019; Hleba vd., 2020; Mohamed-Yousif vd., 2019; Nabil vd., 2020). Tetrasiklin grubu hayvanlarda birçok enfeksiyonun tedavisinde kritik öneme sahip olup (OIE, 2019) insan enfeksiyonlarının tedavisi için de "yüksek derecede önemli antimikrobiyaller" altında sınıflandırılmıştır (WHO, 2019). Diğer antibiyotiklerle karşılaştırıldığında, bu çalışmada tespit edilen nispeten yüksek tetrasiklin direnci oranı, hayvan enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmasından kaynaklanabileceği öne sürülmektedir (Marinho vd., 2016).

Genotipik direnç genlerinin belirlenmesinin sonuçları, aktif eflüks sistemi ile ilişkili olan *tet(A)* ve *tet(B)* genlerinin tetrasiklin direnci ile önemli ölçüde ilişkili

olduğunu gösterdi. Güvercin izolatlarda *tet(A)* taşıma yüzdesi nispeten daha yüksek bulunurken, martı izolatlarda *tet(B)* *tet(A)* genin yüzdesinden daha yüksek bulundu. Genel olarak, *tet(B)* (%66) genin yüzdesi önceki çalışmalardan (Hleba vd., 2020; Islam vd., 2021b; Yuan vd., 2021) farklı olarak *tet(A)* (%63) geninden nispeten daha yüksek olarak görüldü. Ancak, bulgularımızla uyumlu olarak diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda (Bryan vd., 2004; Kozak vd., 2009) *tet(A)* geninden daha yüksek bir *tet(B)* yüzdesi bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile tutarlı olarak, Türkiye'deki sucul canlılardan (kara midye ve deniz salyangozları) izole edilen *E. coli* izolatlarda tetrasiklin direnç genlerini araştıran bir çalışmada (Terzi, 2018), *tet(B)* gen varlığının *tet(A)* geninden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Tetrasikline dirençli izolatların %84,61'i *tet(A)* genini taşıırken, %76,92'sinin *tet(B)* genini taşıdığı bulundu. Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada, karabaşlı martılardan (*Larus michahellis*) izole edilen izolatlardan fenotik olarak tetrasikline dirençli izolatların %55,1'inin (27/49) *tet(A)* geni ve %44,89'unun (22/49) *tet(B)* genine sahip oldukları bildirilmiştir (Dolejska vd., 2007). Merkeviciene vd. (2018), tetrasikline dirençli izolatların %85'inde *tet(A)* ve %18'inde *tet(B)* gen varlığı olduğunu bildirmişlerdir. İrlanda'da yapılan diğer bir çalışmada (Carroll vd., 2015) da, tetrasikline dirençli izolatların sırasıyla %20'sinde (2/10) ve %80'inde (8/10)'inde *tet(A)* ve *tet(B)* gen varlığı rapor edilmiştir. Çin'de (Yuan vd., 2021), Türkiye'de (Aslantaş ve Gövce, 2020) ve Slovakya'da (Hleba vd., 2020) yapılan çalışma ile uyumlu olarak tez çalışmasında incelenen martı ve güvercin kaynaklı *E. coli* izolatların hiçbirinde *tet(C)* geni tespit edilmedi.

Aminoglikozidlerin direnç durumu değerlendirildiğinde, *E. coli* izolatlarının sırasıyla %38'inin ve %37'sinin kanamisin ve streptomisine dirençli olduğu bulundu. Streptomisine karşı saptanan direnç, bu ilaca karşı %34 oranında direnç bildiren Avustralya'da yapılan bir çalışmanın (Smith vd., 2019) sonucu ile uyumlu bulundu. Bununla birlikte, önceki çalışmalarla da sonucumuzdan daha yüksek bir direnç oranı (%48-%85 arasında değişen) (Islam vd., 2021a; Mukerji vd., 2019; Nabil vd., 2020; Radhouani vd., 2012; Tawakol ve Younes, 2019) ve daha düşük bir direnç oranı (%3 ve %9,3) (Dolejska vd., 2007; Russo vd., 2021) da bildirilmiştir. Borges vd. (2017a) tarafından, Brezilya'da yapılan çalışmada tez çalışmasıyla uyumlu olarak %36,8 oranında kanamisin direncinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Barguigua vd. (2019), Fas'ta yaptıkları çalışmada martılardan elde ettikleri *E. coli* izolatların %35'inin

kanamisine dirençli olduğunu bildirmişler. Diğer yandan bu araştırmada bulunan kanamisin direnci, Polonya’da %18 oranında bildiren çalışmanın (Nowaczek vd., 2021) sonucuna göre daha yüksek olarak bulunmuştur. Ancak Yapıcı vd. (2022) tarafından Türkiye’de yapılan çalışmada daha yüksek oranda (%80,4) kanamisin direnci olduğu rapor edilmiştir.

Aminoglikozid sınıfı antibiyotiklerin ana direnç mekanizması, asetilasyon (AAC’ler tarafından), adenilasyon (ANT’ler tarafından) ve fosforilasyon (APH’ler tarafından) yoluyla gerçekleşen aminoglikozid modifiye edici enzimler tarafından enzimatik inaktivasyondur (Garneau-Tsodikova ve Labby, 2016). Tez çalışmasında incelenen aminoglikozid direnç genlerinden *aphA1* ve *strA/strB* *E. coli* izolatlarının sırasıyla %48’inde ve %24’ünde bulundu. Kanamisine dirençli izolatlarının %81,57’sinin *aphA1* genini ve streptomisine dirençli *E. coli* izolatlarının ise %43,24’ünün *strA/strB* genine sahip olduğu tespit edildi. Kanamisine dirençli tüm izolatlarda *aphA1* genini saptayan diğer araştırmacılar (Merkeviciene vd., 2018; Nowaczek vd., 2021) tarafından karşılaştırılabilir sonuçlar bildirilmiştir. Öte yandan AME’leri kodlayan *aphA2*, *aadB* ve *aac(3)IV* gibi diğer genler fenotipik direnç saptanmasına rağmen izolatların hiçbirinde saptanmadı. Daha önceki çalışmalarda (Merkeviciene vd., 2018; Nowaczek vd., 2021) da aynı durum rapor edilmiştir.

Bu çalışmada saptanan ampisiline dirençli izolatların yüzdesi (%28), Polonya’da yabani kuş kökenli *E. coli* izolatlarında ampisiline %28,1 oranında direnç bildiren çalışmanın (Nowaczek vd., 2021) sonucuyla uyumlu bulundu. Benzer bir şekilde Hasan vd. (2014), Bangladeş’te martılardan (*Chroicocephalus brunnicephalus*) izole ettikleri 85 adet *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılıklarını belirlemişler ve izolatların %29,4’ünde ampisilin direnci bildirmişlerdir. Bu çalışmanın aksine, yabani kuş kökenli *E. coli* izolatlarında antibiyotik direnç durumunu araştıran diğer araştırmacılarda, %70-%100 arasında değişen daha yüksek bir ampisilin direnci (Holko vd., 2019; Islam vd., 2021a; Mukerji vd., 2019; Nabil vd., 2020) ve daha düşük ampisilin direnci (%20’nin altında) (Dolejska vd., 2007; Yuan vd., 2021) de bildirilmiştir.

Malezya’da yakın zamanda yapılan bir çalışmada (Mohamed vd., 2022) tez çalışmasının bulguyla (%19) tutarlı olarak %16,7 oranda trimetoprim/sülfametoksazol direnci bildirilmiştir. Kuş türlerine dayalı sonuçlara bakıldığında, güvercin kökenli izolatlarda (%6) bu antibiyotiğe karşı, martı izolatlarına (%32) göre nispeten daha

düşük direnç oranı bulundu. Tez çalışmasındaki bulgularla uyumlu olarak güvercinlerden izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılığını değerlendiren başka bir çalışmada (Silva vd., 2009) da, trimetoprim/sülfametoksazole karşı daha düşük (%3,9) direnç bildirilmiştir. Martı orijinli izolatlarda tespit edilen direnç yüzdesiyle uyumlu olarak Russo vd. (2021) İtalya'da gerçekleştirdikleri çalışmada martı (*Larus michahellis*) kökenli *E. coli* izolatlarının trimetoprim/sülfametoksazole %26,6 oranında dirençli oldukları bildirilmiştir.

Sülfonamid direncine neden olan *sul1*, *sul2* ve *sul3* genleri, izolatlarda sırasıyla %16, %26 ve %34 olarak tespit edildi. Tez çalışmasındaki bulgularla uyumlu olarak, Çin (Yuan vd., 2021) ve Litvanya'da (Merkeviciene vd., 2018) yapılan diğer çalışmalarda da bu genlerin yabani kuşlardan izole edilen *E. coli* izolatlarında yaygın olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte trimetoprim/sülfametoksazole dirençli *E. coli* izolatlarının %96'sının bir veya daha fazla *sul* geni taşıdığı bulundu. Benzer bir sonuçlar daha önce Portekiz'de (Radhouani vd., 2012) ve Slovak cumhuriyetinde (Handrova ve Kmet, 2019) yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir. Genlerin yaygınlığına bakıldığında Handrova ve Kmet (2019), Merkeviciene vd. (2018) ve Yuan vd. (2021) çeşitli yabani kuşlardan izole ettikleri *E. coli* izolatlarında *sul2* geninin baskın olduğunu bildirmişlerdir. Bununla uyumlu olarak tez çalışmasında martı izolatlarında *sul2* geni baskın gen olarak bulundu. Ancak güvercin izolatlarında sülfonamid direncinden sorumlu *sul3* geninin daha baskın olduğu tespit edildi.

Kloramfenikolün direnç oranı değerlendirildiğinde, martı kökenli izolatların %24'ü ve güvercin kaynaklı izolatlarının %18'inin bu antibiyotiğe dirençli olup toplam direnç oranının ise %21 olduğu bulundu. DSÖ (WHO, 2019), kloramfenikolü insan sağlığında "yüksek derecede önemli antimikrobiyaller" altında sınıflandırılmıştır. Türkiye'de (Aslantaş ve Gövce, 2020) dâhil olmak üzere dünyanın pek çok ülkede besi hayvanlarında kloramfenikol kullanımı yasaklanmıştır (Marinho vd., 2016). Bu durumda, çevredeki antibiyotik kalıntı düzeylerinin daha düşük olması nedeniyle yabani kuşların bu antibiyotiğe daha az maruz kalması beklenmektedir (Ong vd., 2020). Buna rağmen sığırlar dâhil olmak üzere çeşitli hayvan türlerinden izole edilen *E. coli* izolatlarında bu antibiyotiğe karşı direnç bildirilmektedir (Makarov vd., 2020; Marinho vd., 2016). Bunun olası nedeni, genetik bağlantı ile ilişkili olarak çevrede antibiyotiğe dirençli bakterilerin kalıcılığı olabilir (Andersson ve Hughes, 2011). Tez çalışmasında elde edilen veriler ile İtalya (Russo vd., 2021), Çek Cumhuriyeti

(Dolejska vd., 2007), Bangladeş (Hasan vd., 2014), Polonya (Nowaczek vd., 2021), Çin (Yuan vd., 2021) ve Polonya'da (Skarżyńska vd., 2021) sırasıyla %0, %1,9, %2,4, %6,25, %11,1 ve %12,9 kloramfenikol direnci bildiren çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında daha yüksek olma eğiliminde olsa da Singapur'da (Ong vd., 2020) gerçekleştirilen bir çalışmanın sonucu (%19,2) ile uyumludur. Ayrıca Bangladeş'te (%43,64) (Islam vd., 2021a) ve Portekiz'de (%41,7) (Radhouani vd., 2012) yabancı kuşlardan elde edilen *E. coli* izolatlarında bu antibiyotiğe karşı daha yüksek direnç bildirilmiştir.

Tez çalışmasında florokinolon (enrofloksasin ve siprofloksasine karşı %12 oranında) ve gentamisine (%13) karşı direnç daha düşük bir yüzdede tespit edildi. Gentamisin ve siprofloksasin, insan enfeksiyonlarının tedavisinde kritik öneme sahip antibiyotiklerdir (WHO, 2019). Güvercin kaynaklı *E. coli* izolatlarının hiçbirinde enrofloksasin, gentamisin ve siprofloksasin direnci bulunmadı. İlginç bir şekilde, bu sonuçlar Türkiye'de evcil güvercinlerden (*Columba livia domestica*) elde edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilini analiz edip enrofloksasin ve gentamisine %100 duyarlılık bildiren bir çalışma (Aşkar vd., 2011) ile uyumlu bulundu. Ayrıca bu çalışmanın sonucuyla uyumlu olarak Silva vd. (2009) güvercin kökenli *E. coli* izolatlarının gentamisine %100 oranında duyarlılık bildirmişlerdir. Horn vd. (2018) Brezilya'da yaptıkları çalışmada yabancı güvercinlerden izole edilen *E. coli* izolatlarında sadece %0,9 (1/110) oranında siprofloksasin ve gentamisin direnci bildirmişlerdir. Tez çalışması ile uyumlu olarak, Singapur'da Ong vd. (2020) tarafından yürütülen başka bir çalışmada, siprofloksasine karşı %11,5 direnç bildirilmiştir. Russo vd. (2021) martı (*Larus michahellis*) orijinli STEC izolatlarının, gentamisine ve enrofloksasine karşı sırasıyla %13,3 ve %16,6 oranında direnç görüldüğü tespit edilmiştir. Diğer yandan tez çalışmasındaki verilerin aksine Mısır'da yapılan bir çalışmada (Tawakol ve Younes, 2019) farklı yabancı kuş türlerinden izole edilen *E. coli* izolatlarında siprofloksasin, gentamisine karşı sırasıyla %88 ve %80 oranında direnç bildirilmiştir.

Sefalotin direnci de martı ve güvercinlerden izole edilen *E. coli* izolatlarının hiçbirinde gözlenmedi. Bununla uyumlu olarak, Çek Cumhuriyeti'nde karabaşlı martılardan izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç profilini değerlendiren bir çalışmada (Dolejská vd., 2009), 213 adet *E. coli* izolatının sadece %1'inin sefalotine dirençli olduğu bildirilmiştir. Suudi Arabistan'da serbest yaşayan

güvercinlerden (*Columba livia*) izole edilen *E. coli* O157'nin antibiyotik direnç profilini araştıran diğer araştırmacı tarafından da benzer bir sonuç (sefalotine karşı %0 direnç) bildirilmiştir (Abulreesh, 2011). Öte yandan tez çalışmasındaki sonucun aksine Holko vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada yabani sülünlerden (*Phasianus colchicus*) izole edilen *E. coli* izolatlarında sefalotine karşı %89 oranında direnç bildirilmiştir. Bu farklılıklar yabani kuş türleri, kuşların beslenme davranışları ve coğrafi konumdan kaynaklanabilmektedir.

Fenotipik ve genotipik direnç profilleri arasındaki korelasyona bakıldığında bazı antibiyotiklerde fenotipik ve genotipik antimikrobiyal direnci arasında istatistiksel olarak önemli ilişki olduğunu ortaya konulsa da direnç fenotipine sahip olan ancak karşılık gelen direnç genlerine sahip olmayan izolatlar ve fenotipik direnç göstermeden direnç genleri taşıyan izolatlara da rastlanıldı. Örneğin, tetrasikline dirençli tüm izolatların *tet(A)*, *tet(B)* veya her ikisini birden barındırdığı ve bu genlere sahip oluşunun tetrasiklinin fenotipik direnci ile önemli ölçüde ($p < 0,05$) ilişkili olduğu bulundu. Benzer sonuçlar streptomisin direnci ile *strA-strB* genin taşıyıcılığı arasındaki ve kanamisin direnci ile *aphA1* genine sahip izolatlar arasındaki korelasyonun analizinde de elde edildi. Öte yandan izolatların fenotipik olarak florokinolonlara ve gentamisine dirençli olmasına rağmen bu antibiyotiklerin direncinden sorumlu genler dirençli izolatların hiçbirinde tespit edilemedi. Bununla birlikte kanamisin, tetrasiklin ve streptomisine duyarlı birçok izolatın bu ilaçlara direnç kazandıran genlere sahip olduğu bulundu. Bu da fenotipik ve genotipik antibiyotik direncinin her zaman tutarlı olmayabileceğini göstermektedir. Aynı durum daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Rahman vd., 2020; Zhang vd., 2021). Fenotipik direnç olmaksızın direnç genlerinin tespiti, tespit edilen genlerin eksprese olmaması veya genlerin fonksiyonel olmamasından kaynaklanabilmektedir (Diren Sigirci vd., 2019; Zhang vd., 2021). Diğer yandan, fenotipik olarak dirençli izolatlarda direnç genlerinin saptanamaması, araştırılanların dışında alternatif direnç mekanizmaların varlığıyla açıklanabilir. Örneğin, *E. coli*, kinolon hedeflerini (DNA giraz ve topoizomeras) kodlayan *gyrA* ve *parC* genlerindeki kromozomal mutasyonlar yoluyla florokinolonlara karşı direnç geliştirebilir. Bu direnç mekanizması dikey (vertikal) olarak geçer ve düşük düzeyde kinolon direnci sağlayan ve yatay olarak geçen plazmid aracılı kinolon direncinin (*qnr* gibi) aksine kinolonlara karşı yaygın olarak yüksek düzeyde direnç sağladığı bilinmektedir (Ehwarieme vd., 2021; Esmael

vd., 2020). Benzer bir şekilde, araştırılan gentamisin direnç genlerinin yokluğu, gentamisine direnç kazandıran alternatif direnç genlerinin varlığına bağlanabilir (Nowaczek vd., 2021).

RAPD-PCR birçok bakteri türünün genetik çeşitliliğini incelemek için duyarlı bir yöntem (Li vd., 2009) olup yabani kuş kökenli *E. coli* izolatlarının genotipik ilişkilerinin değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır (Awadallah vd., 2013; Fadel vd., 2017). Patojenin kökeni veya kaynağının belirlenmesi bu çalışmada yer almamakla birlikte, RAPD-PCR sonuçlarına dayalı filogenetik analiz, güvercin izolatlarında %47-100 ve martı izolatlarında ise %40-100 arasında değişen genetik yakınlığı ortaya koydu. Genetik benzerlikleri %90 ve üzerinde olan suşların aynı kaynaklardan kazanılmış olabileceği düşünülmektedir. Ancak bunun daha ileri tiplendirme teknikleri kullanılarak aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

Genel olarak, tez çalışmasında antibiyotiğe dirençli bakterilerin kaynağı belirlenmemiş olmakla birlikte martı ve güvercinler tarafından taşındığı tespit edildi. Yabani kuşlarda antibiyotiğe dirençli bakterilerin oluşumu, genellikle antibiyotiklere doğrudan maruz kalmaktan ziyade hayvan ve insan atıklarından kaynaklanan çevresel kontaminasyonla ilişkilendirilmektedir (Ahlstrom vd., 2019, 2021; Fashae vd., 2021). Özellikle, belirli bir alandaki antropojenik etkinin (çöplükler, atık sular, hayvan çiftliklerinden kaynaklanan atıklar) seviyesi, yabani kuşların antibiyotiğe dirençli bakteriler tarafından enfekte olma olasılığını etkileyebilmektedir (Dolejska ve Literak, 2019). Kuşların kontamine ortamlarla temasını artıran kentleşme süreci ve doğal yaban hayatı habitatlarının kaybı gibi faktörler de kuşların antibiyotik dirençli bakteriler tarafından enfekte edilmesini kolaylaştırarak bu durumu ağırlaştırmaktadır (Borges vd., 2017a). Dolayısıyla, bu çalışmada ve diğer çalışmalarda tespit edilen antibiyotik direnç yüzdesindeki fark, söz konusu yabani hayvanların ülkeden ülkeye ve hatta aynı ülkedeki farklı yerlerde değişebilen antropojenik kaynaklara erişim seviyelerine ve kuş türlerine göre farklılık gösterebilen yiyecek arama stratejilerine bağlanabilmektedir (Ramey ve Ahlstrom, 2020). Diğer yandan bu çalışmada tespit edilen düşük direnç yüzdesi (enrofloksasin, siprofloksasin ve gentamisin direnci) ve tüm izolatların duyarlı (sefalotine) olması durumu, söz konusu kuş türlerinin bu antibiyotiklere dirençli bakterilerle kontamine olmuş ortamlarla daha az temasının olduğunu veya hiç temas etmediğinin göstergesi olduğunu düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması, yabani kuşların (martı ve güvercin) insan sağlığı açısından öneme sahip ilaçlara dirençli *E. coli* suşları taşıdığını ortaya koydu. İzolatların *tet(A)* ve *tet(B)*), *strA/strB*, *aphA1*, *sul1*, *sul2*, *sul3* gibi insan ve veteriner hekimlikte önemli role sahip ilaçlara direnç sağlayan genlerine sahip oldukları bulundu. Bu sonuçlar, yabani kuşların çoklu ilaca dirençli bakteriler ve direnç genleri için bir rezervuar görevi görebileceğini düşündürmektedir. Yabani kuşlar, evcil hayvanlar ve insanlardan farklı olarak doğrudan antibiyotiklere maruz kalmadıkları için bu çalışmada bulunan sonuçlar dirençli bakterilerle çevresel kontaminasyonun göstergesi olabilir.

Hem insan hem de hayvan sağlığında artan antibiyotik direnci tehdidi göz önüne alındığında, serbest yaşayan yabani hayvanlardan antibiyotik direnç genleri taşıyan ÇİD bakterilerinin tespiti endişe verici bir hale gelmiştir. Özellikle insanlarla yakın temas halinde olan martı ve güvercinler, çevrenin fekal kontaminasyonu yoluyla dirençli bakterilerin yayılmasına katkıda bulunarak halk sağlığını açısından risk oluşturabileceği düşünülmektedir. Bu durum tedavi seçeneklerini sınırlayarak halk sağlığını tehdit etmenin yanı sıra ekonomik kayıplara da yol açabilmektedir. Bu nedenle antibiyotik direnç sorunun ele alınmasında "Tek sağlık yaklaşımı" çatısı altında çok sektörlü iş birliği kritik öneme sahiptir. Büyüyen antibiyotik direnci krizi, dünyayı antibiyotik öncesi bir çağa götürebileceğinden, bu sorunu durdurmaya/azaltmaya özel çaba gösterilmelidir. Olası antibiyotik direnci rezervuarlarının sürekli araştırılması, uygun ilaç reçetesinin sağlanması, farkındalık oluşturulması ve alternatif tedavi seçeneklerin araştırılması oldukça önemlidir.

Bu tez çalışması, çoklu ilaca dirençli ve direnç genlerine sahip *E. coli*'nin martı ve güvercinler tarafından taşınmasını tanımlamış olsa da yabani kuşlar için enfeksiyon kaynağını ve dirençli bakterilerin olası türler arası geçişini aydınlatmak için daha ileri düzeyde moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır. Yabani kuşlar, çevre ve insan arasındaki bulaşma paternini belirlemek için "tek sağlık yaklaşımı" açısından *E. coli* suşların genetik ilişkisini araştıran büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca yabani kanatlıların antibiyotiğe dirençli bakterileri dışkılarıyla saçtığı süre ve patojenin dışkılarında veya çevrelerinde canlı kalma sürelerini değerlendiren ve bulaşma olasılığının belirlenmesinin yapıldığı kapsamlı çalışmalar bu nedenle önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abd El-Razik, K. A., Abdelrahman, K. A., Ahmed, Y. F., Gomaa, A. M. ve Eldebaky, H. A. (2010). Direct Identification of Major Pathogens of the Bubaline Subclinical Mastitis in Egypt using PCR. *Journal of American Science*. 6 (10). 652–660.
- Abulreesh, H. H. (2011). Free Living Rock Pigeon (*Columba livia*) as an Environmental Reservoir of Enteric Bacterial Pathogens Resistant to Antimicrobial Drugs in Saudi Arabia. *Current Research in Bacteriology*. 4 (1). 28–33, doi:10.3923/crb.2011.28.33.
- Abushaheen, M. A., Muzahed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A. A., Shaik, J. ve Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*. 66 (6). 100971, doi:10.1016/j.disamonth.2020.100971.
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S. ve Gupta, R. S. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: Proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66 (12). 5575–5599, doi:10.1099/ijsem.0.001485.
- Ahlstrom, C. A., Bonnedahl, J., Woksepp, H., Hernandez, J., Reed, J. A., Tibbitts, L., Olsen, B., Douglas, D. C. ve Ramey, A. M. (2019). Satellite tracking of gulls and genomic characterization of faecal bacteria reveals environmentally mediated acquisition and dispersal of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* on the Kenai Peninsula, Alaska. *Molecular ecology*. 28 (10). 2531–2545, doi:10.1111/MEC.15101.
- Ahlstrom, C. A., van Toor, M. L., Woksepp, H., Chandler, J. C., Reed, J. A., Reeves, A. B., Waldenström, J., Franklin, A. B., Douglas, D. C., Bonnedahl, J. ve Ramey, A. M. (2021). Evidence for continental-scale dispersal of antimicrobial resistant bacteria by landfill-foraging gulls. *Science of the Total Environment*. 764. 144551, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.144551.
- Ahmed, Z. S., Elshafie, E. A., Khalefa, H. S., Kadry, M. ve Hamza, D. A. (2019). Evidence of colistin resistance genes (*mcr-1* and *mcr-2*) in wild birds and its public health implication in Egypt. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 8. 197, doi:10.1186/s13756-019-0657-5.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F. ve Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: An overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 10 (12). 6235–6254, doi:10.3390/ijerph10126235.
- Andersson, D. I. ve Hughes, D. (2011). Persistence of antibiotic resistance in bacterial populations. *FEMS Microbiology Reviews*. 35 (5). 901–911, doi:10.1111/J.1574-6976.2011.00289.X.
- Andrade, F. F., Silva, D., Rodrigues, A. ve Pina-Vaz, C. (2020). Colistin update on its mechanism of action and resistance, present and future challenges. *Microorganisms*. 8 (11). 1716, doi:10.3390/microorganisms8111716.
- Ashenafi, M., Ammosova, T., Nekhai, S. ve Byrnes, W. M. (2014). Purification and characterization of aminoglycoside phosphotransferase APh(6)-Id, a streptomycin-inactivating enzyme. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 387. 207–216, doi:10.1007/s11010-013-1886-1.
- Aşkar, Ş., Sakarya, F. ve Yildirim, M. (2011). The potential risk in epizootiology of bacterial zoonosis: Pigeon (*Columba livia domestica*) feces. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 17 (SUPPL. A). 13–16.
- Aslantaş, O. ve Gövce, N. (2020). Investigation of antimicrobial resistance in pigeons

- (*Columba livia domestica*) using indicator bacteria. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 71 (2). 2095–2106, doi:10.12681/jhvms.23632.
- Athanasakopoulou, Z., Reinicke, M., Diezel, C., Sofia, M., Chatzopoulos, D. C., Braun, S. D., Reissig, A., Spyrou, V., Monecke, S., Ehricht, R., Tsilipounidaki, K., Giannakopoulos, A., Petinaki, E. ve Billinis, C. (2021). Antimicrobial resistance genes in ESBL-producing *Escherichia coli* isolates from animals in Greece. *Antibiotics*. 10 (4). 389, doi:10.3390/antibiotics10040389.
- Atterby, C., Börjesson, S., Ny, S., Järhult, J. D., Byfors, S. ve Bonnedahl, J. (2017). ESBL-producing *Escherichia coli* in Swedish gulls—A case of environmental pollution from humans? *PLoS ONE*. 12 (12). e0190380, doi:10.1371/journal.pone.0190380.
- Awadallah, M. A. I., Merwad, A. M. ve Mohamed, R. E. (2013). Prevalence of Zoonotic *Escherichia coli* and *Salmonellae* in Wild Birds and Humans in Egypt with Emphasis on RAPD-PCR Fingerprinting of *E. coli*. *Global Veterinaria*. 11 (6). 781–788.
- Aworh, M. K., Kwaga, J. K. P., Hendriksen, R. S., Okolocha, E. C. ve Thakur, S. (2021). Genetic relatedness of multidrug resistant *Escherichia coli* isolated from humans, chickens and poultry environments. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 10. 58, doi:10.1186/s13756-021-00930-x.
- Balouiri, M., Sadiki, M. ve Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6 (2). 71–79, doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- Bardiau, M., Szalo, M. ve Mainil, J. G. (2010). Initial adherence of EPEC, EHEC and VTEC to host cells. *Veterinary Research*. 41, 57, doi:10.1051/vetres/2010029.
- Barguigua, A., Rguibi Idrissi, H., nayme, K. ve Timinouni, M. (2019). Virulence and Antibiotic Resistance Patterns in *E. coli*, Morocco. *EcoHealth*. 16 (3). 570–575, doi:10.1007/S10393-019-01404-8.
- Baylay, A. J., Piddock, L. J. V. ve Webber, M. A. (2019). “Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance – Part I”. B. B. Bonev ve N. M. Brown (eds.). içinde *Bacterial Resistance to Antibiotics: From Molecules to Man* (s. 1–26.). Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd.
- Becker, B. ve Cooper, M. A. (2013). Aminoglycoside antibiotics in the 21st century. *ACS Chemical Biology*. 8 (1). 105–115, doi:10.1021/cb3005116.
- Behera, B., Anil Vishnu, G. K., Chatterjee, S., Sitaramgupta V, V. S. N., Sreekumar, N., Nagabhushan, A., Rajendran, N., Prathik, B. H. ve Pandya, H. J. (2019). Emerging technologies for antibiotic susceptibility testing. *Biosensors and Bioelectronics*. 142, 111552, doi:10.1016/j.bios.2019.111552.
- Ben Yahia, H., Ben Sallem, R., Tayh, G., Klibi, N., Ben Amor, I., Gharsa, H., Boudabbous, A. ve Ben Slama, K. (2018). Detection of CTX-M-15 harboring *Escherichia coli* isolated from wild birds in Tunisia. *BMC Microbiology*. 18. 26, doi:10.1186/s12866-018-1163-2.
- Benkova, M., Soukup, O. ve Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*. 129 (4). 806–822, doi:10.1111/JAM.14704.
- Bertelloni, F., Lunardo, E., Rocchigiani, G., Ceccherelli, R. ve Ebani, V. (2019). Occurrence of *Escherichia coli* virulence genes in feces of wild birds from Central Italy. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 12 (3). 142–146, doi:10.4103/1995-7645.254941.
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O. ve Laura J V Piddock (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews. Microbiology*. 13 (1). 42–51, doi:10.1038/nrmicro3380.

- Bockstael, K. ve Van Aerschot, A. (2009). Antimicrobial resistance in bacteria. *Central European Journal of Medicine*. 4 (2). 141–155, doi:10.2478/s11536-008-0088-9.
- Boerlin, P. ve White, D. G. (2013). Antimicrobial Resistance and Its Epidemiology. S. Giguère, J. F. Prescott, P. M. Dowling (eds.). içinde *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* (s. 21–40). Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.
- Bonnedahl, J., Drobni, M., Gauthier-Clerc, M., Hernandez, J., Granholm, S., Kayser, Y., Melhus, Å., Kahlmeter, G., Waldenström, J., Johansson, A. ve Olsen, B. (2009). Dissemination of *Escherichia coli* with CTX-M type ESBL between humans and yellow-legged gulls in the south of France. *PLoS ONE*. 4 (6). e5958, doi:10.1371/journal.pone.0005958.
- Bonnedahl, J., Drobni, P., Johansson, A., Hernandez, J., Melhus, Å., Stedt, J., Olsen, B. ve Drobni, M. (2010). Characterization, and comparison of human clinical and black-headed gull (*Larus ridibundus*) extended-spectrum β -lactamase-producing bacterial isolates from Kalmar, on the southeast coast of Sweden. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 65 (9). 1939–1944, doi:10.1093/jac/dkq222.
- Bonnedahl, J. ve Järhult, J. D. (2014). Antibiotic resistance in wild birds. *Upsala Journal of Medical Sciences*. 119 (2), 113, doi:10.3109/03009734.2014.905663.
- Bonnet, R. (2004). Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: The CTX-M Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 48 (1). 1–14, doi:10.1128/AAC.48.1.1-14.2004.
- Borges, C. A., Beraldo, L. G., Maluta, R. P., Cardozo, M. V., Barboza, K. B., Guastalli, E. A. L., Kariyawasam, S., DebRoy, C. ve Ávila, F. A. (2017a). Multidrug-resistant pathogenic *Escherichia coli* isolated from wild birds in a veterinary hospital. *Avian Pathology*. 46 (1). 76–83, doi:10.1080/03079457.2016.1209298.
- Borges, C. A., Cardozo, M. V., Beraldo, L. G., Oliveira, E. S., Maluta, R. P., Barboza, K. B., Werther, K. ve Ávila, F. A. (2017b). Wild birds and urban pigeons as reservoirs for diarrheagenic *Escherichia coli* with zoonotic potential. *Journal of Microbiology*. 55 (5). 344–348, doi:10.1007/s12275-017-6523-3.
- Bryan, A., Shapir, N. ve Sadowsky, M. J. (2004). Frequency and Distribution of Tetracycline Resistance Genes in Genetically Diverse, Nonselected, and Nonclinical *Escherichia coli* Strains Isolated from Diverse Human and Animal Sources. *Applied and Environmental Microbiology*. 70 (4), 2503, doi:10.1128/AEM.70.4.2503-2507.2004.
- Butaye, P., Cloeckert, A. ve Schwarz, S. (2003). Mobile genes coding for efflux-mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 22 (3). 205–210, doi:10.1016/S0924-8579(03)00202-4.
- Carlson, J. C., Chandler, J. C., Bisha, B., LeJeune, J. T. ve Wittum, T. E. (2020). Bird-livestock interactions associated with increased cattle fecal shedding of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* within feedlots in the United States. *Scientific Reports*. 10. 10174, doi:10.1038/s41598-020-66782-4.
- Carroll, D., Wang, J., Fanning, S. ve McMahon, B. J. (2015). Antimicrobial Resistance in Wildlife: Implications for Public Health. *Zoonoses and Public Health*. 62 (7), 534–542, doi:10.1111/zph.12182.
- Cattoir, V., Poirol, L., Rotimi, V., Soussy, C.-J. ve Nordmann, P. (2007). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 60 (2). 394–397, doi:10.1093/JAC/DKM204.
- Cernicchiaro, N., Pearl, D. L., McEwen, S. A., Harpster, L., Homan, H. J., Linz, G. M. ve LeJeune, J. T. (2012). Association of Wild Bird Density and Farm Management Factors

- with the Prevalence of *E. coli* O157 in Dairy Herds in Ohio (2007-2009). *Zoonoses and Public Health*. 59 (5). 320–329, doi:10.1111/j.1863-2378.2012.01457.x.
- Chung, D. M., Ferree, E., Simon, D. M. ve Yeh, P. J. (2018). Patterns of bird-bacteria associations. *EcoHealth*. 15 (3), 627–641, doi:10.1007/s10393-018-1342-5.
- Çiftci, A. ve Aksoy, A. (2015). Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences- Pharmacology and Toxicology - Special Topics*. 1 (2). 1–10.
- CLSI. (2015). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement*. 25. baskı Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institut.
- CLSI. (2018). *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals*. 4. baskı Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI. (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30. baskı CLSI supplement M100, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institut.
- Costa, D., Poeta, P., Sáenz, Y., Vinué, L., Rojo-Bezares, B., Jouini, A., Zarazaga, M., Rodrigues, J. ve Torres, C. (2006). Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum β -lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 58 (6). 1311–1312, doi:10.1093/jac/dkl415.
- Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M. ve Finlay, B. B. (2013). Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 26 (4). 822, doi:10.1128/CMR.00022-13.
- Da Costa, P. M., Loureiro, L. ve Matos, A. J. F. (2013). Transfer of multidrug-resistant bacteria between intermingled ecological niches: The interface between humans, animals and the environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 10 (1). 278–294, doi:10.3390/ijerph10010278.
- Davies, J. ve Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* : *MMBR*. 74 (3). 417, doi:10.1128/MMBR.00016-10.
- Delcour, A. H. (2009). Outer Membrane Permeability and Antibiotic Resistance. *Biochimica et biophysica acta*. 1794 (5). 808, doi:10.1016/J.BBAPAP.2008.11.005.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S. ve Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews. Microbiology*. 19 (1). 37–54, doi:10.1038/S41579-020-0416-X.
- Dipineto, L., Russo, T. P., Gargiulo, A., Borrelli, L., De Luca Bossa, L. M., Santaniello, A., Buonocore, P., Menna, L. F. ve Fioretti, A. (2014). Prevalence of enteropathogenic bacteria in common quail (*Coturnix coturnix*). *Avian Pathology*. 43 (6). 498–500, doi:10.1080/03079457.2014.966055.
- Diren Sigirci, B., Celik, B., Başaran Kahraman, B., Bağcigil, A. F. ve Ak, S. (2019). Tetracycline Resistance of Enterobacteriaceae Isolated From Feces of Synanthropic Birds. *Journal of Exotic Pet Medicine*. 28. 13–18, doi:10.1053/J.JEPM.2017.12.003.
- Dolejská, M., Bierošová, B., Kohoutová, L., Literák, I. ve Čížek, A. (2009). Antibiotic-resistant *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates with integrons and extended-spectrum beta-lactamases in surface water and sympatric black-headed gulls. *Journal of applied microbiology*. 106 (6). 1941–1950, doi:10.1111/J.1365-2672.2009.04155.X.
- Dolejska, M., Cizek, A. ve Literak, I. (2007). High prevalence of antimicrobial-resistant genes and integrons in *Escherichia coli* isolates from Black-headed Gulls in the Czech Republic. *Journal of applied microbiology*. 103 (1). 11–19, doi:10.1111/J.1365-

- Dolejska, M. ve Literak, I. (2019). Wildlife is overlooked in the epidemiology of medically important antibiotic-resistant bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 63 (8). doi:10.1128/AAC.01167-19.
- Duijkeren, E. van, Schink, A.-K., Roberts, M. C., Wang, Y. ve Schwarz, S. (2018). "Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents". S. Schwarz, L. M. Cavaco, ve J. Shen (eds.). içinde *Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals* (s. 51–82.). Washington DC: John Wiley & Sons, Ltd.
- Džidić, S., Šušković, J. ve Kos, B. (2008). Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Biochemical and genetic aspects. *Food Technology and Biotechnology*. 46 (1). 11–21.
- Dziva, F. ve Stevens, M. P. (2008). Colibacillosis in poultry: Unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* in their natural hosts. *Avian Pathology*. 37 (4). 355–366, doi:10.1080/03079450802216652.
- EFSA ve ECDC (2021). The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA journal*. 19 (2). 6406, doi:10.2903/j.efsa.2021.6406.
- Ehwarieme, D. A., Whiliki, O. O. ve Ejukonemu, F. E. (2021). Occurrence of plasmid mediated fluoroquinolone resistance genes amongst enteric bacteria isolated from human and animal sources in Delta state, Nigeria. *AIMS Microbiology*. 7 (1). 75–95, doi:10.3934/microbiol.2021006.
- Ejidokun, O. O., Walsh, A., Barnett, J., Hope, Y., Ellis, S., Sharp, M. W., Paiba, G. A., Logan, M., Willshaw, G. A. ve Cheasty, T. (2006). Human Vero cytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) O157 infection linked to birds. *Epidemiology and Infection*. 134 (2). 421–423, doi:10.1017/S0950268805004917.
- Elitok, B. ve Bingüler, N. (2017). Kanatlılarda *Escherichia coli* Enfeksiyonları. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 11 (1). 34–38.
- Elsohaby, I., Samy, A., Elmoslemay, A., Alorabi, M., Alkafafy, M., Aldoweriej, A., Al-Marri, T., Elbehiry, A. ve Fayez, M. (2021). Migratory wild birds as a potential disseminator of antimicrobial-resistant bacteria around al-asfar lake, eastern saudi arabia. *Antibiotics*. 10 (3). 260, doi:10.3390/antibiotics10030260.
- Esmaeel, N. E., Gerges, M. A., Hosny, T. A., Ali, A. R. ve Gebriel, M. G. (2020). Detection of chromosomal and plasmid-mediated quinolone resistance among *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection cases; Zagazig University Hospitals, Egypt. *Infection and Drug Resistance*. 13. 413–421, doi:10.2147/IDR.S240013.
- Fadel, H. M., Afifi, R. ve Al-Qabili, D. M. (2017). Characterization and zoonotic impact of Shiga toxin producing *Escherichia coli* in some wild bird species. *Veterinary World*. 10 (9). 1118–1128, doi:10.14202/vetworld.2017.1118-1128.
- Fahim, K. M., Ismael, E., Khalefa, H. S., Farag, H. S. ve Hamza, D. A. (2019). Isolation and characterization of *E. coli* strains causing intramammary infections from dairy animals and wild birds. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 7 (1). 61–70, doi:10.1080/23144599.2019.1691378.
- Fancher, C. A., Zhang, L., Kiess, A. S., Adhikari, P. A., Dinh, T. T. N. ve Sukumaran, A. T. (2020). Avian pathogenic *Escherichia coli* and clostridium perfringens: Challenges in no antibiotics ever broiler production and potential solutions. *Microorganisms*. 8 (10). 1533, doi:10.3390/microorganisms8101533.
- Fashae, K., Engelmann, I., Monecke, S., Braun, S. D. ve Ehricht, R. (2021). Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* in wild birds and cattle, Ibadan, Nigeria. *BMC Veterinary Research*. 17. 33, doi:10.1186/s12917-020-02734-4.

- Fernández-Villa, D., Aguilar, M. R. ve Rojo, L. (2019). Folic acid antagonists: Antimicrobial and immunomodulating mechanisms and applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 20. 4996, doi:10.3390/ijms20204996.
- Founou, R. C., Founou, L. L. ve Essack, S. Y. (2017). Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 12 (12). e0189621, doi:10.1371/journal.pone.0189621.
- Franklin, A. B., Ramey, A. M., Bentler, K. T., Barrett, N. L., McCurdy, L. M., Ahlstrom, C. A., Bonnedahl, J., Shriner, S. A. ve Chandler, J. C. (2020). Gulls as Sources of Environmental Contamination by Colistin-resistant Bacteria. *Scientific Reports*. 10. 4408, doi:10.1038/s41598-020-61318-2.
- Fuirst, M., Veit, R. R., Hahn, M., Dheilly, N. ve Thorne, L. H. (2018). Effects of urbanization on the foraging ecology and microbiota of the generalist seabird *Larus argentatus*. *PLoS ONE*. 13 (12). e0209200, doi:10.1371/journal.pone.0209200.
- Gargiulo, A., Fioretti, A., Russo, T. P., Varriale, L., Rampa, L., Paone, S., De Luca Bossa, L. M., Raia, P. ve Dipineto, L. (2018). Occurrence of enteropathogenic bacteria in birds of prey in Italy. *Letters in Applied Microbiology*. 66 (3). 202–206, doi:10.1111/lam.12836.
- Gargiulo, A., Russo, T. P., Schettini, R., Mallardo, K., Calabria, M., Menna, L. F., Raia, P., Pagnini, U., Caputo, V., Fioretti, A. ve Dipineto, L. (2014). Occurrence of enteropathogenic bacteria in Urban pigeons (*Columba livia*) in Italy. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 14 (4). 251–255, doi:10.1089/vbz.2011.0943.
- Garneau-Tsodikova, S. ve Labby, K. J. (2016). Mechanisms of Resistance to Aminoglycoside Antibiotics: Overview and Perspectives. *MedChemComm*. 7 (1). 11–27, doi:10.1039/C5MD00344J.
- Gaukler, S. M., Linz, G. M., Sherwood, J. S., Dyer, N. W., Bleier, W. J., Wannemuehler, Y. M., Nolan, L. K. ve Logue, C. M. (2009). *Escherichia coli*, salmonella, and mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in Wild European starlings at a Kansas cattle feedlot. *Avian Diseases*. 53 (4). 544–551, doi:10.1637/8920-050809-Reg.1.
- Germon, P., Chen, Y. H., He, L., Blanco, J. E., Brée, A., Schouler, C., Huang, S. H. ve Moulin-Schouleur, M. (2005). *ibeA*, a virulence factor of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Microbiology*. 151 (4). 1179–1186, doi:10.1099/mic.0.27809-0.
- Gordon, D. M. ve Cowling, A. (2003). The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: Host and geographic effects. *Microbiology*. 149 (12). 3575–3586, doi:10.1099/mic.0.26486-0.
- Goumas, M., Boogert, N. J. ve Kelley, L. A. (2020). Urban herring gulls use human behavioural cues to locate food. *Royal Society Open Science*. 7. 191959, doi:10.1098/rsos.191959.
- Green, D. W. (2002). The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 6 (1). 1–20, doi:10.1517/14728222.6.1.1.
- Grenni, P., Ancona, V. ve Barra Caracciolo, A. (2018). Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. *Microchemical Journal*. 136. 25–39, doi:10.1016/J.MICROC.2017.02.006.
- Guabiraba, R. ve Schouler, C. (2015). Avian colibacillosis: Still many black holes. *FEMS Microbiology Letters*. 362. 15, doi:10.1093/femsle/fnv118.
- Guenther, S., Aschenbrenner, K., Stamm, I., Bethe, A., Semmler, T., Stubbe, A., Stubbe, M., Batsajkhan, N., Glupczynski, Y., Wieler, L. H. ve Ewers, C. (2012). Comparable High Rates of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Birds of Prey from Germany and Mongolia. *PLoS ONE*. 7 (12). e53039, doi:10.1371/journal.pone.0053039.

- Gülhan, T. (2003). Sağlıklı Görünen Hayvanların Dışkılarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Biyokimyasal, Enterotoksijenik ve Verotoksijenik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 14 (1). 102–109.
- Gülhan, T., Boynukara, B., Durmuş, A., Kiziroğlu, I. ve Sancak, Y. C. (2012). Enteric bacteria and some pathogenic properties of *Enterococcus Faecalis*, *Enterococcus Faecium* and *Escherichia coli* strains isolated from wild ducks and gulls. *Fresenius Environmental Bulletin*. 21 (7 A). 1961–1966.
- Gülhan, T., Boynukara, B. ve İlhan, Z. (2003). Memeli ve kanatlı hayvanlardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Dergisi*. 3(1–2). 39–44.
- Haag-Wackernagel, D. (2006). “Human diseases caused by feral pigeons”. *Advances in Vertebrate Pest Management*. 4. 31–58.
- Handrova, L. ve Kmet, V. (2019). Antibiotic resistance and virulence factors of *Escherichia coli* from eagles and goshawks. *Journal of Environmental Science and Health - Part B*. 54 (7), 605–614, doi:10.1080/03601234.2019.1608103.
- Harbottle, H., Thakur, S., Zhao, S. ve White, D. G. (2007). Genetics of Antimicrobial Resistance. *Animal Biotechnology*. 17 (2). 111–124, doi:10.1080/10495390600957092.
- Hasan, B., Laurell, K., Rakib, M. M., Ahlstedt, E., Hernandez, J., Caceres, M. ve Järhult, J. D. (2016). Fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in healthy humans, poultry, and wild birds in León, Nicaragua - A shared pool of blaCTX-M genes and possible interspecies clonal spread of extended-spectrum β -lactamases-producing *Escherichia coli*. *Microbial Drug Resistance*. 22 (8). 682–687, doi:10.1089/mdr.2015.0323.
- Hasan, B., Melhus, Å., Sandegren, L., Alam, M. ve Olsen, B. (2014). The gull (*Chroicocephalus brunnicephalus*) as an environmental bioindicator and reservoir for antibiotic resistance on the coastlines of the bay of Bengal. *Microbial Drug Resistance*. 20 (5). 466–471, doi:10.1089/mdr.2013.0233.
- Hernandez, J., Johansson, A., Stedt, J., Bengtsson, S., Porczak, A., Granholm, S., González-Acuña, D., Olsen, B., Bonnedahl, J. ve Drobni, M. (2013). Characterization and Comparison of Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL) Resistance Genotypes and Population Structure of *Escherichia coli* Isolated from Franklin’s Gulls (*Leucophaeus pipixcan*) and Humans in Chile. *PLoS ONE*. 8 (9). e76150, doi:10.1371/journal.pone.0076150.
- Hleba, L., Hlebová, M., Kováčik, A., Šmehýl, P., Hricáková, N., Petrová, J., Shariati, M. A. ve Čuboň, J. (2020). *Escherichia coli* as a carrier of tetracyclines and penicillins resistance in wild pheasant (*Phasianus colchicus*). *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 55 (10). 1201–1209, doi:10.1080/10934529.2020.1777050.
- Höfle, U., Jose Gonzalez-Lopez, J., Camacho, M. C., Solà-Ginés, M., Moreno-Mingorance, A., Manuel Hernández, J., De La Puente, J., Pineda-Pampliega, J., Aguirre, J. I., Torres-Medina, F., Ramis, A., Majó, N., Blas, J. ve Migura-García, L. (2020). Foraging at Solid Urban Waste Disposal Sites as Risk Factor for Cephalosporin and Colistin Resistant *Escherichia coli* Carriage in White Storks (*Ciconia ciconia*). *Frontiers in Microbiology*. 11. 1397, doi:10.3389/fmicb.2020.01397.
- Holko, I., Doležalová, M., Pavlíčková, S., Gal, R., Valenta, T. ve Holková, T. (2019). Antimicrobial-resistance in *Escherichia coli* isolated from wild pheasants (*Phasianus colchicus*). *Veterinaria Italiana*. 55 (2). 169–172, doi:10.12834/VetIt.887.4400.3.
- Horn, R. V., Bezerra, W. G. A., Lopes, E. S., Teixeira, R. S. C., Silva, I. N. G., Bona, M. D., Havt, A. ve Cardoso, W. M. (2018). Antimicrobial susceptibility and diarrheagenic

- diagnosis of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from feral pigeons (*Columba livia*) captured in Fortaleza, Brazil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 38 (11). 2155–2158, doi:10.1590/1678-5150-PVB-5633.
- Hubálek, Z. (2021). Pathogenic microorganisms associated with gulls and terns (Laridae). *Journal of Vertebrate Biology*. 70 (3), 21009, doi:10.25225/jvb.21009.
- Hughes, L. A., Bennett, M., Coffey, P., Elliott, J., Jones, T. R., Jones, R. C., Lahuerta-Marin, A., McNiffe, K., Norman, D., Williams, N. J. ve Chantrey, J. (2009). Risk factors for the occurrence of *Escherichia coli* virulence genes eae, stx1 and stx2 in wild bird populations. *Epidemiology and Infection*. 137 (11). 1574–1582, doi:10.1017/S0950268809002507.
- Islam, M. S., Nayeem, M. M. H., Sobur, M. A., Ievy, S., Islam, M. A., Rahman, S., Kafi, M. A., Ashour, H. M. ve Rahman, M. T. (2021a). Virulence determinants and multidrug resistance of *Escherichia coli* isolated from migratory birds. *Antibiotics*. 10. 190, doi:10.3390/antibiotics10020190.
- Islam, M. S., Sobur, M. A., Rahman, S., Ballah, F. M., Ievy, S., Siddique, M. P., Rahman, M., Kafi, M. A. ve Rahman, M. T. (2021b). Detection of blaTEM, blaCTX-M, blaCMY, and blaSHV Genes Among Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Migratory Birds Travelling to Bangladesh. *Microbial Ecology*. 83. 942–950, doi:10.1007/s00248-021-01803-x.
- Jacoby, G. A. (2005). Mechanisms of resistance to quinolones. *Clinical Infectious Diseases*. 41 (2 SUPPL.). S120–S126, doi:10.1086/428052.
- Johnson, T. J., Kariyawasam, S., Wannemuehler, Y., Mangiamale, P., Johnson, S. J., Doetkott, C., Skyberg, J. A., Lynne, A. M., Johnson, J. R. ve Nolan, L. K. (2007). The genome sequence of avian pathogenic *Escherichia coli* strain O1:K1:H7 shares strong similarities with human extraintestinal pathogenic *E. coli* genomes. *Journal of Bacteriology*. 189 (8). 3228–3236, doi:10.1128/JB.01726-06.
- Johnson, T. J., Wannemuehler, Y., Doetkott, C., Johnson, S. J., Rosenberger, S. C. ve Nolan, L. K. (2008). Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. *Journal of Clinical Microbiology*. 46 (12). 3987–3996, doi:10.1128/JCM.00816-08.
- Jorgensen, J. H. ve Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*. 49 (11). 1749–1755, doi:10.1086/647952.
- Kapoor, G., Saigal, S. ve Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology*. 33 (3). 300, doi:10.4103/joacp.joacp_349_15.
- Karmali, M. A., Petric, M., Steele, B. T. ve Lim, C. (1983). Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *The Lancet*. 321 (8325). 619–620, doi:10.1016/S0140-6736(83)91795-6.
- Kauffman, M. D. ve LeJeune, J. (2011). European Starlings (*Sturnus vulgaris*) challenged with *Escherichia coli* O157 can carry and transmit the human pathogen to cattle. *Letters in Applied Microbiology*. 53 (6). 596–601, doi:10.1111/j.1472-765X.2011.03163.x.
- Khan, Z. A., Siddiqui, M. F. ve Park, S. (2019). Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing. *Diagnostics*. 9 (2). 49, doi:10.3390/diagnostics9020049.
- Kimura, A. H., Koga, V. L., de Souza Gazal, L. E., de Brito, B. G., de Brito, K. C. T., Navarro-Ocaña, A., Nakazato, G. ve Kobayashi, R. K. T. (2021). Characterization of multidrug-resistant avian pathogenic *Escherichia coli*: an outbreak in canaries. *Brazilian Journal of Microbiology*. 52 (2). 1005–1012, doi:10.1007/s42770-021-00443-0.

- Konicek, C., Vodrážka, P., Barták, P., Knotek, Z., Hess, C., Račka, K., Hess, M. ve Troxler, S. (2016). Detection of zoonotic pathogens in wild birds in the cross-border region Austria–Czech Republic. *Journal of Wildlife Diseases*. 52 (4). 850–861, doi:10.7589/2016-02-038.
- Kozak, G. K., Boerlin, P., Janecko, N., Reid-Smith, R. J. ve Jardine, C. (2009). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Swine and Wild Small Mammals in the Proximity of Swine Farms and in Natural Environments in Ontario, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*. 75 (3). 559, doi:10.1128/AEM.01821-08.
- Li, W., Raoult, D. ve Fournier, P. E. (2009). Bacterial strain typing in the genomic era. *FEMS Microbiology Reviews*. 33 (5). 892–916, doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00182.x.
- Liakopoulos, A., Mevius, D. ve Ceccarelli, D. (2016a). A review of SHV extended-spectrum β -lactamases: Neglected yet ubiquitous. *Frontiers in Microbiology*. 7. 1374, doi:10.3389/fmicb.2016.01374.
- Liakopoulos, A., Olsen, B., Geurts, Y., Artursson, K., Berg, C., Mevius, D. J. ve Bonnedahl, J. (2016b). Molecular characterization of extended-spectrum-cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae from wild kelp gulls in South America. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 60 (11). 6924–6927, doi:10.1128/AAC.01120-16.
- Lim, J. Y., Yoon, J. W. ve Hovde, C. J. (2010). A brief overview of *Escherichia coli* O157:H7 and its plasmid O157. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 20 (1). 5–14, doi:10.4014/jmb.0908.08007.
- Lin, J., Zhou, D., Steitz, T. A., Polikanov, Y. S. ve Gagnon, M. G. (2018). Ribosome-Targeting Antibiotics: Modes of Action, Mechanisms of Resistance, and Implications for Drug Design. *Annual Review of Biochemistry*. 87. 451–478, doi:10.1146/annurev-biochem-062917-011942.
- Liwa, A. C. ve Jaka, H. (2015). “Antimicrobial resistance: Mechanisms of action of antimicrobial agents”. A. Méndez-Vilas (ed.). içinde *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs* (s. 876–885). Spain: Formatex Research Center.
- Lutful Kabir, S. M. (2010). Avian colibacillosis and salmonellosis: A closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 7, 89–114, doi:10.3390/ijerph7010089.
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T. ve Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*. 18 (3). 268–281, doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
- Makarov, D. A., Ivanova, O. E., Karabanov, S. Y., Gergel, M. A. ve Pomazkova, A. V. (2020). Antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* from food-producing animals in Russia. *Veterinary World*. 13 (10). 2053–2061, doi:10.14202/vetworld.2020.2053-2061.
- Maluta, R. P., Logue, C. M., Casas, M. R. T., Meng, T., Guastalli, E. A. L., Rojas, T. C. G., Montelli, A. C., Sadatsune, T., de Carvalho Ramos, M., Nolan, L. K. ve da Silveira, W. D. (2014). Overlapped Sequence Types (STs) and Serogroups of Avian Pathogenic (APEC) and Human Extra-Intestinal Pathogenic (ExPEC) *Escherichia coli* Isolated in Brazil. *PLoS ONE*. 9 (8). e105016, doi:10.1371/journal.pone.0105016.
- Manges, A. R. ve Johnson, J. R. (2012). Food-Borne Origins of *Escherichia coli* Causing

- Extraintestinal Infections. *Clinical Infectious Diseases*. 55 (5). 712–719, doi:10.1093/cid/cis502.
- Marinho, C. M., Santos, T., Gonçalves, A., Poeta, P. ve Igrejas, G. (2016). A decade-long commitment to antimicrobial resistance surveillance in Portugal. *Frontiers in Microbiology*. 7. 1650, doi:10.3389/FMICB.2016.01650/BIBTEX.
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A. ve Maguire, D. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology* (2. baskı). London: Elsevier.
- Mccoy, L. S., Xie, Y. ve Tor, Y. (2011). Antibiotics that target protein synthesis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*. 2 (2). 209–232, doi:10.1002/wrna.60.
- Medhanie, G. A., Pearl, D. L., McEwen, S. A., Guerin, M. T., Jardine, C. M., Schrock, J. ve LeJeune, J. T. (2016). On-farm starling populations and other environmental and management factors associated with the presence of cefotaxime and ciprofloxacin resistant *E. coli* among dairy cattle in Ohio. *Preventive Veterinary Medicine*. 134. 122–127, doi:10.1016/j.prevetmed.2016.10.006.
- Mellata, M. (2013). Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: Infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. *Foodborne Pathogens and Disease*. 10 (11). 916–932, doi:10.1089/fpd.2013.1533.
- Merkeviciene, L., Klimiene, I., Siugzdiniene, R., Virgailis, M., Mockeliunas, R. ve Ruzauskas, M. (2018). Prevalence and molecular characteristics of multi-resistant *Escherichia coli* in wild birds. *Acta Veterinaria Brno*. 87. 9–17, doi:10.2754/avb201887010009.
- Mohamed-Yousif, I. M., Abu, J., Abdul-Aziz, S., Zakaria, Z., Rashid, A. ve Awad, E. A. (2019). Occurrence of antibiotic resistant *C. Jejuni* and *E. coli* in wild birds, chickens, environment and humans from orang asli villages in sungai siput, Perak, Malaysia. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*. 14 (3). 158–169, doi:10.3844/ajavsp.2019.158.169.
- Mohamed, M.Y., Abu, J., Aziz, S., Zakaria, Z., Khan, A. ve Habib, I. (2022). Occurrence of antibiotic resistant *C. jejuni* and *E. coli* in wild birds, chickens, humans, and the environment in Malay villages, Kedah, Malaysia. *Veterinárni Medicina*. 67 (6). 298–308, doi:10.17221/102/2021-vetmed.
- Mohsin, M., Raza, S., Roschanski, N., Schaufler, K. ve Guenther, S. (2016). First description of plasmid-mediated colistin-resistant extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in a wild migratory bird from Asia. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 48 (4). 463–464, doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.07.001.
- Mohsin, M., Raza, S., Schaufler, K., Roschanski, N., Sarwar, F., Semmler, T., Schierack, P. ve Guenther, S. (2017). High prevalence of CTX-M-15-Type ESBL-Producing *E. coli* from migratory avian species in Pakistan. *Frontiers in Microbiology*. 8. 2476, doi:10.3389/fmicb.2017.02476.
- Moulin-Schouleur, M., Répérant, M., Laurent, S., Brée, A., Mignon-Grasteau, S., Germon, P., Rasschaert, D. ve Schouler, C. (2007). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: Link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. *Journal of Clinical Microbiology*. 45 (10), 3366–3376, doi:10.1128/JCM.00037-07.
- Mukerji, S., Stegger, M., Truswell, A. V., Laird, T., Jordan, D., Abraham, R. J., Harb, A., Barton, M., O’Dea, M. ve Abraham, S. (2019). Resistance to critically important antimicrobials in Australian silver gulls (*Chroicocephalus novaehollandiae*) and evidence of anthropogenic origins. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 74 (9). 2566–2574, doi:10.1093/jac/dkz242.
- Munita, J. M. ve Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*. 4 (2). 464–472, doi:10.1128/microbiolspec.vmbf-0016-2015.

- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., Agarwal, R., Naghavi, M. vd. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 399 (10325). 629–655, doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
- Nabil, N. M., Erfan, A. M., Tawakol, M. M., Haggag, N. M., Naguib, M. M. ve Samy, A. (2020). Wild Birds in Live Birds Markets: Potential Reservoirs of Enzootic Avian Influenza Viruses and Antimicrobial Resistant Enterobacteriaceae in Northern Egypt. *Pathogens*. 9. 196, doi:10.3390/pathogens9030196.
- Navarro-gonzalez, N., Wright, S., Aminabadi, P., Gwinn, A., Suslow, T. V. ve Jay-russell, M. T. (2020). Carriage and subtypes of foodborne pathogens identified in wild birds residing near agricultural lands in California: A repeated cross-sectional study. *Applied and Environmental Microbiology*. 86 (3). e01678-19, doi:10.1128/AEM.01678-19.
- Nielsen, E. M., Skov, M. N., Madsen, J. J., Lodal, J., Jespersen, J. B. ve Baggesen, D. L. (2004). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in wild birds and rodents in close proximity to farms. *Applied and Environmental Microbiology*. 70 (11). 6944–6947, doi:10.1128/aem.70.11.6944-6947.2004.
- Nolan, L. K., Vaillancourt, J. P., Barbieri, N. L. ve Logue, C. M. (2019). “Colibacillosis”. D. E. Swayne, M. Boulianne, C. M. Logue, L. R. McDougald, V. Nair, D. L. Suarez , G. Tom, W. Sjaak de, J. Deirdre, K. Michelle, P. T. Yodiantara, R. Ian ve Z. Guillermo (eds.). içinde *Diseases of Poultry* (770–830). Hoboken: Wiley-Blackwell.
- Nowaczek, A., Dec, M., Stępień-Pyśniak, D., Urban-Chmiel, R., Marek, A. ve Róžański, P. (2021). Antibiotic Resistance and Virulence Profiles of *Escherichia coli* Strains Isolated from Wild Birds in Poland. *Pathogens*. 10 (8). 1059, doi:10.3390/pathogens10081059.
- O’Neill, J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations: the review on antimicrobial resistance. https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final_paper_with_cover.pdf [Erişim Aralık 31, 2021].
- OIE. (2019). OIE List of Antimicrobials of Veterinary Importance. https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/AMR/A_OIE_List_antimicrobials_May2018.pdf [Erişim Nisan 28, 2021].
- Omerovic, M., Kaan Müştak, H. ve Kaya, İ. B. (2017). *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*. 28 (1). 1–6.
- Ong, K. H., Khor, W. C., Quek, J. Y., Low, Z. X., Arivalan, S., Humaidi, M., Chua, C., Seow, K. L. G., Guo, S., Tay, M. Y. F., Schlundt, J., Ng, L. C. ve Aung, K. T. (2020). Occurrence and Antimicrobial Resistance Traits of *Escherichia coli* from Wild Birds and Rodents in Singapore. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17. 5606, doi:10.3390/ijerph17155606.
- Parin, U., Kirkan, Ş. ve Erbaş, G. (2019). “Emerging Bacterial Zoonoses in Migratory Birds”, J. R. Kideghesho ve A. A. Rija (eds.). içinde *Wildlife Management - Failures, Successes and Prospects* (s. 23–41). IntechOpen.
- Parker, D., Sniatynski, M. K., Mandrusiak, D. ve Rubin, J. E. (2016). Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* isolated from wild birds in Saskatoon, Canada. *Letters in Applied Microbiology*. 63. 11–15, doi:10.1111/lam.12589.
- Persad, A. K. ve LeJeune, J. T. (2014). Animal Reservoirs of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*. 2 (4). 1–14, doi:10.1128/microbiolspec.ehec-0027-2014.
- Peterson, E. ve Kaur, P. (2018). Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Relationships

- between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 9. 2928, doi:10.3389/fmicb.2018.02928.
- Pham, T. D. M., Ziora, Z. M. ve Blaskovich, M. A. T. (2019). Quinolone antibiotics. *MedChemComm*. 10. 1719–1739, doi:10.1039/c9md00120d.
- Pławińska-Czarnak, J., Wódz, K., Piechowicz, L., Tokarska-Pietrzak, E., Belkot, Z., Bogdan, J., Wiśniewski, J., Kwieciński, P., Kwieciński, A. ve Anusz, K. (2022). Wild Duck (*Anas platyrhynchos*) as a Source of Antibiotic-Resistant *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* O58—The First Report in Poland. *Antibiotics*. 11(4). 530, doi:10.3390/antibiotics11040530.
- Plaza-Rodríguez, C., Alt, K., Grobbel, M., Hammerl, J. A., Irrgang, A., Szabo, I., Stingl, K., Schuh, E., Wiehle, L., Pfefferkorn, B., Naumann, S., Kaesbohrer, A. ve Tenhagen, B. A. (2021). Wildlife as Sentinels of Antimicrobial Resistance in Germany? *Frontiers in Veterinary Science*. 7. 627821, doi:10.3389/fvets.2020.627821.
- Poeta, P., Radhouani, H., Igrejas, G., Gonçalves, A., Carvalho, C., Rodrigues, J., Vinué, L., Somalo, S. ve Torres, C. (2008). Seagulls of the Berlengas natural reserve of Portugal as carriers of fecal *Escherichia coli* harboring CTX-M and TEM extended-spectrum beta-lactamases. *Applied and Environmental Microbiology*. 74 (23). 7439–7441, doi:10.1128/AEM.00949-08.
- Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P. ve Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*. 6 (4). ARBA-0026-2017, doi:10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017.
- Pulingam, T., Parumasivam, T., Gazzali, A. M., Sulaiman, A. M., Chee, J. Y., Lakshmanan, M., Chin, C. F. ve Sudesh, K. (2022). Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 170. 106103, doi:10.1016/j.ejps.2021.106103.
- Radhouani, H., Poeta, P., Gonçalves, A., Pacheco, R., Sargo, R. ve Igrejas, G. (2012). Wild birds as biological indicators of environmental pollution: Antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* and Enterococci isolated from common buzzards (*Buteo buteo*). *Journal of Medical Microbiology*. 61. 837–843, doi:10.1099/jmm.0.038364-0.
- Radimersky, T., Frolkova, P., Janoszowska, D., Dolejska, M., Svec, P., Roubalova, E., Cikova, P., Cizek, A. ve Literak, I. (2010). Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Escherichia coli*, Enterococcus spp.) in feral pigeons. *Journal of Applied Microbiology*. 109 (5). 1687–1695, doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04797.x.
- Rahman, M. M., Husna, A., Elshabrawy, H. A., Alam, J., Runa, N. Y., Badruzzaman, A. T. M., Banu, N. A., Al Mamun, M., Paul, B., Das, S., Rahman, M. M., Mahbub-E-Elahi, A. T. M., Khairalla, A. S. ve Ashour, H. M. (2020). Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* from chicken meat. *Scientific Reports*. 10. 21999, doi:10.1038/s41598-020-78367-2.
- Ramey, A. M. ve Ahlstrom, C. A. (2020). Antibiotic resistant bacteria in wildlife: Perspectives on trends, acquisition and dissemination, data gaps, and future directions. *Journal of Wildlife Diseases*. 56 (1). 1–15, doi:10.7589/2019-04-099.
- Ramey, A. M., Hernandez, J., Tyrlöv, V., Uher-Koch, B. D., Schmutz, J. A., Atterby, C., Järhult, J. D. ve Bonnedahl, J. (2018). Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in Migratory Birds Inhabiting Remote Alaska. *EcoHealth*. 15. 72–81, doi:10.1007/s10393-017-1302-5.
- Ramirez, M. S. ve Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*. 13 (6). 151–171, doi:10.1016/j.drug.2010.08.003.
- Ranjbar, R., Karami, A., Farshad, S., Giammanco, G. m. ve Mammina, C. (2014). Typing methods used in the molecular epidemiology of microbial pathogens: a how-to guide.

- Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*. 4 (3). 482–501, doi:10.3934/microbiol.2018.3.482.
- Richter, A., Feßler, A. T., Böttner, A., Köper, L. M., Wallmann, J. ve Schwarz, S. (2020). Reasons for antimicrobial treatment failures and predictive value of in-vitro susceptibility testing in veterinary practice: An overview. *Veterinary microbiology*. 245. 108694, doi:10.1016/j.vetmic.2020.108694.
- Rodriguez-Siek, K. E., Giddings, C. W., Doetkott, C., Johnson, T. J., Fakhr, M. K. ve Nolan, L. K. (2005). Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Microbiology*. 151 (6). 2097–2110, doi:10.1099/mic.0.27499-0.
- Ruppitsch, W. (2016). Molecular typing of bacteria for epidemiological surveillance and outbreak investigation. *Bodenkultur*. 67 (4). 199–224, doi:10.1515/BOKU-2016-0017.
- Russo, T. P., Pace, A., Varriale, L., Borrelli, L., Gargiulo, A., Pompameo, M., Fioretti, A. ve Dipineto, L. (2021). Prevalence and antimicrobial resistance of enteropathogenic bacteria in yellow-legged gulls (*Larus michahellis*) in southern Italy. *Animals*. 11 (2). 275, doi:10.3390/ani11020275.
- Ruzauskas, M. ve Vaskeviciute, L. (2016). Detection of the mcr-1 gene in *Escherichia coli* prevalent in the migratory bird species *Larus argentatus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 71 (8). 2333–2334, doi:10.1093/jac/dkw245.
- Sabat, A. J., Budimir, A., Nashev, D., Sá-Leão, R., van Dijk, J. M., Laurent, F., Grundmann, H. ve Friedrich, A. W. (2013). Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Eurosurveillance*. 18 (4). 20380, doi:10.2807/es.18.04.20380-en.
- Sabtu, N., Enoch, D. A. ve Brown, N. M. (2015). Antibiotic resistance: what, why, where, when and how? *British medical bulletin*. 116 (1). 105–113, doi:10.1093/BMB/LDV041.
- Samadpour, M., Stewart, J., Steingart, K., Addy, C., Louderback, J., McGinn, M., Ellington, J. ve Newman, T. (2002). Laboratory investigation of an *E. coli* O157:H7 outbreak associated with swimming in Battle Ground Lake, Vancouver, Washington. *Journal of Environmental Health*. 64 (10). 16–20.
- Sanches, L. A., Gomes, M. da S., Teixeira, R. H. F., Cunha, M. P. V., Oliveira, M. G. X. de, Vieira, M. A. M., Gomes, T. A. T. ve Knobl, T. (2017). Captive wild birds as reservoirs of enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC). *Brazilian Journal of Microbiology*. 48 (4). 760–763, doi:10.1016/j.bjm.2017.03.003.
- Sandegren, L., Stedt, J., Lustig, U., Bonnedahl, J., Andersson, D. I. ve Järhult, J. D. (2018). Long-term carriage and rapid transmission of extended spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* within a flock of Mallards in the absence of antibiotic selection. *Environmental Microbiology Reports*. 10 (5). 576–582, doi:10.1111/1758-2229.12681.
- Santos, T., Silva, N., Igrejas, G., Rodrigues, P., Micael, J., Rodrigues, T., Resendes, R., Gonçalves, A., Marinho, C., Gonçalves, D., Cunha, R. ve Poeta, P. (2013). Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* from wild birds of Azores Archipelago. *Anaerobe*. 24. 25–31, doi:10.1016/j.anaerobe.2013.09.004.
- Sarkar, P., Yarlagadda, V., Ghosh, C. ve Haldar, J. (2017). A review on cell wall synthesis inhibitors with an emphasis on glycopeptide antibiotics. *MedChemComm*. 8 (3). 516, doi:10.1039/C6MD00585C.
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G. ve Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and

- potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: Recent reports. *Gut Pathogens*. 11. 1699, doi:10.1186/s13099-019-0290-0.
- Schierack, P., Heiden, S. E., Khan, M. M., Nikolaus, L., Kolenda, R., Stubbe, M., Lkhagvasuren, D., Rödiger, S., Guenther, S. ve Schaufler, K. (2020). Genomic and Phenotypic Analysis of an ESBL-Producing *E. coli* ST1159 Clonal Lineage From Wild Birds in Mongolia. *Frontiers in Microbiology*. 11. 1699, doi:10.3389/fmicb.2020.01699.
- Schwarz, S., Loeffler, A. ve Kadlec, K. (2017). Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Veterinary dermatology*. 28 (1), 82-e19, doi:10.1111/VDE.12362.
- Shobrak, M. Y. ve Abo-Amer, A. E. (2014). Role of wild birds as carriers of multi-drug resistant *Escherichia coli* and *Escherichia vulneris*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45 (4). 1199–1209, doi:10.1590/S1517-83822014000400010.
- Shulman, S. T., Friedmann, H. C. ve Sims, R. H. (2007). Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician? *Clinical infectious diseases*. 45 (8). 1025–1029, doi:10.1086/521946.
- Sianglum, W., Kittiniyom, K., Srimanote, P. ve Wonglumsom, W. (2009). Development of multiplex pcr assays for detection of antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* and enterococci. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*. 17 (2). 117–134, doi:10.1111/j.1745-4581.2009.00161.x.
- Silva, V. L., Nicoli, J. R., Nascimento, T. C. ve Diniz, C. G. (2009). Diarrheagenic *Escherichia coli* strains recovered from urban pigeons (*Columba livia*) in Brazil and their antimicrobial susceptibility patterns. *Current Microbiology*. 59, 302–308, doi:10.1007/s00284-009-9434-7.
- Singh, S. P., Qureshi, A. ve Hassan, W. (2021). Mechanisms of action by antimicrobial agents: A review. *McGill Journal of Medicine*. 19 (4). 1–10, doi:10.26443/mjm.v19i1.217.
- Sjölund, M., Bonnedahl, J., Hernandez, J., Bengtsson, S., Cederbrant, G., Pinhassi, J., Kahlmeter, G. ve Olsen, B. (2008). Dissemination of multidrug-resistant bacteria into the arctic. *Emerging Infectious Diseases*. 14 (1). 70–72, doi:10.3201/eid1401.070704.
- Skarżyńska, M., Zajac, M., Bomba, A., Bocian, Ł., Kozdruń, W., Polak, M., Wiacek, J. ve Wasyl, D. (2021). Antimicrobial Resistance Glides in the Sky—Free-Living Birds as a Reservoir of Resistant *Escherichia coli* With Zoonotic Potential. *Frontiers in Microbiology*. 12. 656223, doi:10.3389/fmicb.2021.656223.
- Smith, H. G., Clarke, R. H., Larkins, J. A., Bean, D. C. ve Greenhill, A. R. (2019). Wild Australian birds and drug-resistant bacteria: characterisation of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. *Emu - Austral Ornithology*. 119 (4). 384–390, doi:10.1080/01584197.2019.1591162.
- Smith, O. M., Snyder, W. E. ve Owen, J. P. (2020). Are we overestimating risk of enteric pathogen spillover from wild birds to humans? *Biological Reviews*. 95 (3). 652–679, doi:10.1111/brv.12581.
- Söderlund, R., Skarin, H., Börjesson, S., Sannö, A., Jernberg, T., Aspán, A., Ågren, E. O. ve Hansson, I. (2019). Prevalence and genomic characteristics of zoonotic gastro-intestinal pathogens and ESBL/pAmpC producing Enterobacteriaceae among Swedish corvid birds. *Infection Ecology and Epidemiology*. 9 (1). 1701399, doi:10.1080/20008686.2019.1701399.
- Sora, V. M., Meroni, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L. ve Zecconi, A. (2021). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: Virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens*. 10 (11). 1355, doi:10.3390/pathogens10111355.

- Stedt, J., Bonnedahl, J., Hernandez, J., McMahon, B. J., Hasan, B., Olsen, B., Drobni, M. ve Waldenström, J. (2014). Antibiotic resistance patterns in *Escherichia coli* from gulls in nine European countries. *Infection Ecology & Epidemiology*. 4 (1). 21565, doi:10.3402/iee.v4.21565.
- Suvethika, P., Subapriya, S., Vairamuthu, S., Kannan, S., Sangli, K. ve Kumar, V. (2021). Isolation and identification of bacterial pathogens causing infection in commercial layers. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 9 (1). 1694–1697.
- Tawakol, M. ve Younes, A. (2019). Role of Migratory Birds in Transmission of *E. coli* Infection to Commercial Poultry. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 62 (2). 72–81, doi:10.5455/ajvs.57309.
- Terzi, E. (2018). Antimicrobial Resistance Profiles and Tetracycline Resistance Genes of *Escherichia coli* in Mediterranean Mussel and Sea Snails Collected from the Eastern Black Sea (Turkey). *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*. 33 (1). 43–49, doi:10.28955/alinterizbd.355019.
- Thiede, S. ve Krone, O. (2001). Polygranulomatosis in a common buzzard (*Buteo buteo*) due to *Escherichia coli* (Hjärre's disease). *Veterinary Record*. 149 (25). 774–776, doi:10.1136/vr.149.25.774.
- Tivendale, K. A., Logue, C. M., Kariyawasam, S., Jordan, D., Hussein, A., Li, G., Wannemuehler, Y. ve Nolan, L. K. (2010). Avian-pathogenic *Escherichia coli* strains are similar to neonatal meningitis *E. coli* strains and are able to cause meningitis in the rat model of human disease. *Infection and Immunity*. 78 (8). 3412–3419, doi:10.1128/IAI.00347-10.
- Tsiodras, S., Kelesidis, T., Kelesidis, I., Baehlinger, U. ve Falagas, M. E. (2008). Human infections associated with wild birds. *Journal of Infection*. 56 (2). 83–98, doi:10.1016/j.jinf.2007.11.001.
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khushro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. Bin, Dhama, K., Ripon, M. K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, M. J. ve Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*. 14 (12). 1750–1766, doi:10.1016/J.JIPH.2021.10.020.
- van Belkum, A., Tassios, P. T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N. K., Fussing, V., Green, J., Feil, E., Gerner-smidt, P., Brisse, S. ve Struelens, M. (2007). Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 13 (SUPPL. 3), 1–46, doi:10.1111/j.1469-0691.2007.01786.x.
- Varela, A. R., Manageiro, V., Ferreira, E., Guimarães, M. A., Da Costa, P. M., Caniça, M. ve Manaia, C. M. (2015). Molecular evidence of the close relatedness of clinical, gull and wastewater isolates of quinolone-resistant *Escherichia coli*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 3 (4), 286–289, doi:10.1016/j.jgar.2015.07.008.
- Varela, M. F., Stephen, J., Lekshmi, M., Ojha, M., Wenzel, N., Sanford, L. M., Hernandez, A. J., Parvathi, A. ve Kumar, S. H. (2021). Bacterial resistance to antimicrobial agents. *Antibiotics*. 10 (5). 593, doi:10.3390/antibiotics10050593.
- Veldman, K., van Tulden, P., Kant, A., Testerink, J. ve Mevius, D. (2013). Characteristics of cefotaxime-resistant *Escherichia coli* from wild birds in The Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*. 79 (24). 7556–7561, doi:10.1128/AEM.01880-13.
- Velhner, M., Todorović, D., Novović, K., Jovčić, B., Lazić, G., Kojić, M. ve Kehrenberg, C. (2021). Characterization of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates from Black-headed gulls (*Larus ridibundus*) present in the city of Novi Sad, Serbia. *Veterinary Research Communications*. 45 (4). 199–209, doi:10.1007/s11259-021-09801-7.

- Vergara, A., Pitart, C., Montalvo, T., Roca, I., Sabaté, S., Hurtado, J. C., Planell, R., Marco, F., Ramírez, B., Peracho, V., De Simón, M. ve Vila, J. (2017). Prevalence of extended-spectrum- β -lactamase- and/or carbapenemase-producing *Escherichia coli* isolated from yellow-legged gulls from Barcelona, Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 61 (2). e02071-16, doi:10.1128/AAC.02071-16.
- Versalovic, J., Koeuth, T. ve Lupski, R. (1991). Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*. 19 (24). 6823–6831, doi:10.1093/NAR/19.24.6823.
- Vogel, L., van Oorschot, E., Maas, H. M. E., Minderhoud, B. ve Dijkshoorn, L. (2000). Epidemiologic typing of *Escherichia coli* using RAPD analysis, ribotyping and serotyping. *Clinical Microbiology and Infection*. 6 (2). 82–87, doi:10.1046/J.1469-0691.2000.00013.X.
- Vollmer, W., Blanot, D. ve De Pedro, M. A. (2008). Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiology Reviews*. 32 (2). 149–167, doi:10.1111/J.1574-6976.2007.00094.X.
- Wallace, J. S., Cheasty, T. ve Jones, K. (1997). Isolation of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from wild birds. *Journal of Applied Microbiology*. 82 (3). 399–404, doi:10.1046/j.1365-2672.1997.00378.x.
- Watts, J. L., Sweeney, M. T. ve Lubbers, B. V (2018). Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria of Veterinary Origin. *Microbiology Spectrum*. 6 (2). ARBA-0001-2017, doi:10.1128/microbiolspec.arba-0001-2017.
- WHO. (2019). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine: Ranking of medically important antimicrobials for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use*. 6. baskı Geneva: World Health Organization.
- WHO. (2021). Antimicrobial resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> [Erişim Aralık 31, 2021].
- Williams, M. L., Pearl, D. L. ve LeJeune, J. T. (2011). Multiple-locus variable-nucleotide tandem repeat subtype analysis implicates European starlings as biological vectors for *Escherichia coli* O157:H7 in Ohio, USA. *Journal of Applied Microbiology*. 111 (4). 982–988, doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05102.x.
- Wu, J., Huang, Y., Rao, D., Zhang, Y. ve Yang, K. (2018). Evidence for environmental dissemination of antibiotic resistance mediated by wild birds. *Frontiers in Microbiology*. 9. 745, doi:10.3389/fmicb.2018.00745.
- Yapıcıer, O. Ş., Kandir, E. H. ve Öztürk, D. (2022). Antimicrobial Resistance of *E. coli* and *Salmonella* Isolated from Wild Birds in a Rehabilitation Center in Turkey. *Archives of Razi Institute*. 77 (1). 239–249, doi:10.22092/ARI.2021.356322.1823.
- Yoneyama, H. ve Katsumata, R. (2006). Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 70 (5). 1060–1075, doi:10.1271/bbb.70.1060.
- Yuan, Y., Liang, B., Jiang, B.-W., Zhu, L.-W., Wang, T.-C., Li, Y.-G., Liu, J., Guo, X.-J., Ji, X. ve Sun, Y. (2021). Migratory wild birds carrying multidrug-resistant *Escherichia coli* as potential transmitters of antimicrobial resistance in China. *PloS one*. 16 (12). e0261444, doi:10.1371/journal.pone.0261444.
- Zhang, S., Chen, S., Rehman, M. U., Yang, H., Yang, Z., Wang, M., Jia, R., Chen, S., Liu, M., Zhu, D., Zhao, X., Wu, Y., Yang, Q., Huan, J., Ou, X., Mao, S., Gao, Q., Sun, D., Tian, B. ve Cheng, A. (2021). Distribution and association of antimicrobial resistance and virulence traits in *Escherichia coli* isolates from healthy waterfowls in Hainan, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 220. 112317, doi:10.1016/J.ECOENV.2021.112317.

- Zhang, X., Jiang, X., Yang, Q., Xu, Y., Wang, X., Wang, J., Sun, X., Xie, G., Zhang, Y., Zhao, J. ve Qu, K. (2020). Affordable automated phenotypic antibiotic susceptibility testing method based on a contactless conductometric sensor. *Scientific Reports*. 10. 21216, doi:10.1038/s41598-020-77938-7.
- Zhao, H., Sun, R., Yu, P. ve Alvarez, P. J. J. (2020). High levels of antibiotic resistance genes and opportunistic pathogenic bacteria indicators in urban wild bird feces. *Environmental Pollution*. 266. 115200, doi:10.1016/j.envpol.2020.115200.

ÖZ GEÇMİŞ

Nejash Abdela AHMED, Gelemso Lisesi'ni bitirdikten sonra Jimma Üniversitesi Veterinerlik ve Ziraat Fakültesi, Veterinerlik bölümünden 06.07. 2017 yılında mezun oldu. Mezuniyetinden 2019'a kadar, farklı pozisyonlarda Daro Labu Hayvancılık Kaynak Geliştirme Müdürlüğünde görev yaptı. 2019 yılında OMÜ LEE Veterinerlik Mikrobiyolojisi Yüksek Lisans programına girdi. Nejash Abdela AHMED iyi derecede İngilizce ve Türkçe bilmektedir. Temel ilgi alanları konak-patojen etkileşimi, zoonotik enfeksiyonlar ve antibiyotik direncidir.

İletişim Bilgileri

ORCID: 0000-0002-8461-4434.

Yayınlar:

1. Ahmed, N. A., ve Gulhan, T. (2022). Campylobacter in Wild Birds: Is It an Animal and Public Health Concern?. *Frontiers in microbiology*, 12, 812591. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.812591>

Kongre ve Sempozyum Bildirileri:

1. Ahmed, N. A., and Gulhan. T. (2022). Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*: A Foodborne Bacterial Pathogen, In Eliaçık, M., Alimgereyev, Z. (Eds.), 4. *Hagia Sophia International Conference on Multidisciplinary Scientific Studies* (s. 390-399), 11-13 Şubat 2022. İstanbul, Türkiye.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. Türkiye Burslusu, 2019, Lisansüstü program