



SELÇUK
ÜNİVERSİTESİ

Araştırma Makalesi

Geliş (Received) :22/04/2020
Kabul (Accepted) :26/06/2020

Üropatojenik *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Direnç Profilleri ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Mehmet Akif BOZKIR¹, Ahmet UYSAL^{2*}, Emine ARSLAN³

*Sorumlu yazar: ahuysal@selcuk.edu.tr

¹Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Laboratuvar Anabilim Dalı, KONYA

Orcid No: 0000-0003-3008-7592 / makif@selcuk.edu.tr

²Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Programı, KONYA

Orcid No: 0000-0002-9297-4050 / ahuyasal@selcuk.edu.tr

³Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, KONYA

Orcid No: 0000-0002-0782-506X / earslan@selcuk.edu.tr

Öz: Bu çalışmada; idrar yolu enfeksiyonlarından izole ve tanımlanmış 135 *Escherichia coli* suşu; yirmi farklı antibiyotige duyarlılıkları ve genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi (GSBL) üretimleri açısından değerlendirildi. Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için, disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Suşların % 65.1'nin en az bir veya daha fazla antibiyotige dirençli olduğu ve suşlar arasında 69 farklı direnç profili olduğu belirlendi. Suşlar arasındaki en yüksek direnç oranı % 50.4 ile ampisiline karşı olduğu, bunu % 40.7 tetrasiklin, % 40 nalidiksik asit, % 31.1 ofloksasin ve moksifloksasin, % 28.9 ile amoksisilin/klavulanik asit ve siprofloksasin'in takip ettiği görüldü. Suşlar meropenem karşı % 100 duyarlı olarak gözlemlendi, bunu % 1.48 oranı ile imipenem ve % 2.2 oranı ile amikasinin takip ettiği görüldü. GSBL üretiminin belirlenmesi için çift disk sinerji yöntemi kullanıldı. Fenotipik olarak GSBL pozitif suş sayısı 16 (% 11.8) olarak tespit edildi. GSBL pozitif suşların genotipik olarak GSBL genlerinin tespiti amacı ile multipleks PZR yöntemi kullanıldı. Bu yöntem ile *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaSHV*, *blaOXA* beta laktamaz genleri araştırıldı. GSBL pozitif suşlarda en yaygın genin % 93.7 oranı ile *blaTEM* geni olduğu ortaya koyuldu. Üropatojenik *Escherichia coli* enfeksiyonları dünya çapında ciddi bir sorun haline gelmiştir. Hem sentetik hem de doğal antibiyotiklere karşı artan dirençli suşlar, yeni ve daha ciddi hastalıkların ortaya çıkmasıyla enfeksiyonun tekrarlamasına ve kronikleşmesine neden olmaktadır. Bu sebeple üropatojenik *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç özellikleri ile ilgili sürveyans çalışmaları yapılmalı ve yeni terapötik çözümlerin geliştirilmesine olanak sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, *blaTEM*, GSBL, İdrar yolu enfeksiyonu, UPEC.

Evaluation of Antibiotic Resistance Profiles and Extended Spectrum of Beta Lactamase (ESBL) Properties of Uropathogenic *Escherichia coli* Strains

Abstract: In this study; 135 *Escherichia coli* strains, isolated and identified from urinary tract infections, were evaluated for their sensitivity to twenty different antibiotics and for their production of extended spectrum of beta lactamase enzyme (ESBL). Disc diffusion method was used to determine antibiotic susceptibilities. It was determined that 65.1% of the strains were resistant to at least one or more antibiotics and there were 69 different resistance profiles among the strains. It was seen that the highest resistance rate among strains was 50.4% against ampicillin, followed by 40.7% tetracycline, 40% nalidixic acid, 31.1% ofloxacin and moxifloxacin, 28.9% amoxicillin / clavulanic acid and ciprofloxacin. Strains were observed to be 100% sensitive to meropenem, followed by imipenem with a rate of 1.48% and amikacin with a rate of 2.2%. Double disk synergy method was used to determine the production of ESBL. It was determined that phenotypically, the number of ESBL positive strains was 16 (11.8%). Multiplex PCR method was used to detect the ESBL genes genotypically in ESBL positive strains. With this method, *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaSHV*, *blaOXA* beta lactamase genes were investigated. It was revealed that the most common gene in ESBL positive strains was the *blaTEM* gene with a rate of 93.7%. Uropathogenic *Escherichia coli* infections have become a serious problem worldwide. Strains that are increasingly resistant to both synthetic and natural antibiotics cause the infection to recur and become chronic with the emergence of new and more serious diseases. For this reason, surveillance studies on the antibiotic resistance properties of uropathogenic *E. coli* strains should be conducted and new therapeutic solutions should be developed.

Keywords: Antibiotic resistance, *blaTEM*, ESBL, Urinary tract infection, UPEC

1. Giriş

Patojen mikroorganizmaların varlığı insan hayatını sürekli tehdit eden bir unsur haline gelmiştir. Bu mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonlar insanların yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Enfeksiyonlarla mücadele etmenin yolu antibiyotiklere dayanmaktadır. Antibiyotiklerin keşfi tıpta devrim yaratmış ve birçok yönden insan sağlığını ve refahını daha iyi hale getirmiştir. Antibiyotik kullanılmadan önce *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bakterisinde ölüm oranı oldukça yüksek olup, çoğu yara enfeksiyonu amputasyonla tedavi edilmiştir. Örneğin, Birinci Dünya Savaşı'ndaki amputasyonların yaklaşık % 70'i yara enfeksiyonlarının sonucudur (Hirsch, 2008; Li ve Webster, 2018). Antibiyotiklerin tanıtılması, enfekte olmuş hastaların kaderini ve çeşitli hastalıkların ve cerrahi prosedürlerin tedavi şeklini önemli ölçüde değiştirmiştir (Li ve Webster, 2018).

Antibiyotikler bakterilere karşı tartışmasız en başarılı tedavi şeklidir. Uzun bir süre önce keşfedilmeleri ve ticari kullanıma girmelerinden bu yana, antibiyotikler her gün sayısız insan hayatını kurtarmıştır. Modern tıp, antibiyotik tedavisinin etkinliğine bağlıdır. İdrar yolu, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, zatürre ve endokardit, menenjit ve sepsis gibi hayatı tehdit eden çeşitli

enfeksiyonların tedavisi için gerekli olduğu kadar, sezaryen ve organ nakilleri gibi ileri tıbbi prosedürleri sürdürmek için de gereklidir. Ancak antibiyotiklerde zamanla etkilerini kaybetmektedir. Çünkü bakterilerin antibiyotiklere karşı savunma mekanizmaları vardır ve her geçen gün bu mekanizmalarını geliştirmektedirler. İşte bu durum antibiyotik direnci olarak açıklanmaktadır. Bakteriler, çevrelerinde meydana gelen değişikliklere hızlı uyum sağlayabilen canlılardır. Antibiyotik direnci de bunun bir örneğidir. Belirli bir antibiyotiğe karşı direnç, söz konusu antibiyotiğin tedavi dozunda dirençli bakterileri öldüremediğini veya çoğalmalarına engel olamadığını ifade etmektedir. Antibiyotik direnci, yaygın ve artan antibiyotik kullanımından kaynaklanmakta (Levy, 2002; Holvoet ve ark., 2013; Vital ve ark., 2018) ve giderek artan bir şekilde küresel bir sağlık kaygısı haline gelmektedir. Çünkü bu durum mevcut tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır, bu da daha fazla hastaneye yatış, yüksek tedavi maliyetleri ve artan mortalite ve morbidite oranları ile sonuçlanmaktadır (Vital ve ark., 2018).

Escherichia coli, doğada yaygın olarak bulunabilen, fakültatif, anaerob, Gram negatif, laboratuvar koşullarında kolayca ve ucuz bir şekilde yetiştirilebilen, çubuk şeklinde bir bakteridir. Biyoloji

mühendisliği ve endüstriyel mikrobiyolojide farklı çalışmalar için model organizma olarak kabul edilmiştir (Lee, 1996; Sharma ve ark., 2016). *E. coli* suşlarının çoğu bağırsaklarda bulunur ve patojenik bakterilerin kolonileşmesini önleyerek konakçıya fayda sağlamaktadır (Sharma ve ark., 2016). Antibiyotik direnci prevalansının arttığı en dikkat çekici *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinden biri, *Escherichia coli*'dir. İdrar yolu enfeksiyonu dünya çapında ciddi bir sağlık tehdidi olarak görülmektedir. İdrar yolu enfeksiyonu (İYE)'ye neden olan *E. coli* suşları üropatojenik *E. coli* (UPEC) olarak adlandırılmaktadır (Sharma ve ark., 2016). İYE için en sık neden olan etken *E. coli* olarak kabul edilmiştir ve bu izolatların çoğu ampisilin, amoksisilin-klavulanik asit, norfloksasin, sefuroksim, seftriakson ve ko-trimoksazol gibi antibiyotiklere dirençli olarak kabul edilmiştir (Niranjan ve Malini, 2014; Sharma ve ark., 2016). UPEC, toplum kökenli ve nozokomiyal İYE'lerin baskın nedenidir (Emody ve ark., 2003; Ejrnaes ve ark., 2011; Zamani ve Salehzadeh, 2018). *E. coli*, dünya genelinde 130-175 milyon idrar yolu enfeksiyonu ve ABD'de her yıl 127.500 sepsis vakasından sorumludur ve bu da yüksek morbidite ve mortalite oranları ile sağlık bakım maliyetlerinde büyük bir yük oluşturmaktadır (Russo ve Johnson, 2003; Surgers ve ark., 2019). Bakteriler, dirence neden olan genetik yapıları farklı bakteri

türlerine de aktarabilir, bu da antibiyotik direncinin bakteriler arasında yaygınlaşmasına önemli katkı sağlamaktadır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), özellikle *Enterobacteriaceae* familyası bakterilerinde bulunan, klavulanik asit tarafından inhibe edilirken birinci, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç sağlayan plazmitler tarafından sıklıkla kodlanan heterojen bir enzim grubudur (Bush ve Jacoby, 2010; Shaikh ve ark., 2015; Maslikowska ve ark., 2016; Danino ve ark., 2018; Moawad ve ark., 2018). Klinik bakterilerde GSBL kodlayan genlerin çoğu plazmitlerin üzerinde yer almaktadır (Brolund, 2014; Moawad ve ark., 2018). Bu plazmitler ayrıca, aminoglikozitler ve florokinolonlar dahil olmak üzere diğer ilaç sınıflarına direnci kodlayan genleri taşıyabilirler (Perez ve Bonomo, 2012; Moawad ve ark., 2018). GSBL genlerinin iletimi, ortaya çıkan bakteri klonları veya yatay gen transferi ile gerçekleşebilir ve direnç genleri içeren plazmitler, bakteriler arasında yayılabilir (Brolund, 2014; Moawad ve ark., 2018). Bu yüzden *E. coli* tarafından üretilen genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar özellikle önemlidir (Tissera ve Lee, 2013; Vital ve ark., 2018).

Bu çalışmada idrar yolları enfeksiyonlarından (İYE) izole ve tanımlanmış 135 *Escherichia coli* suşunun çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının

araştırılması, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) enzim üretim potansiyellerinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bakteri Suşları

Bu çalışmada; Konya İli merkezinde ve çevre ilçelerde bulunan bazı kamu ve özel hastanelerden temin edilen 135 adet idrar yolu enfeksiyonundan izole edilmiş *Escherichia coli* izolatu toplandı. Çeşitli besi ortamlarında bulunan bu izolatlar hızlı bir şekilde Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri M.Y.O. Araştırma Laboratuvarına getirildi ve saflık kontrolleri yapıldı. Saflaştırılan izolatlar çalışma yapılana kadar uygun saklama ortamlarında -80°C'de muhafaza edildi.

2.2. Kullanılan Besi Yerleri, Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılacak suşların izolasyonlarının yapılmasında ve kültürlerinin hazırlanmasında kullanılan; Triptik Soy Broth (TSB) besiyeri ticari olarak Difco (Becton Dickinson, NJ

USA)'dan; suşların *E. coli* olduğunu doğrulamak için Chromocult TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar ve antibiyogram çalışmasında kullanılan Mueller-Hinton Agar (MHA), % 96'lık Etil alkol ticari olarak Merck (Darmstadt, Germany) firmasından; Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS) tabletleri Oxoid (England) firmasından temin edildi.

Antibiyogram ve GSBL çalışmalarında kullanmak üzere Amoksisilin/klavulanik asit (AMC), Imipenem (IPM), Ofloxacin (OFX), Sefuroksim (CXM), Aztreonam (ATM), Sefotaksim (CTX), Ertapenem (ETP), Nalidiksik asid (NA), Kanamisin (K), Sefepim (FEP), Seftazidim (CAZ), Meropenem (MEM), Gentamisin (CN), Tetrasiklin (TE), Amikasin (AK), Siprofloksasin (CIP), Ampisilin (AM), Norfloksasin (NOR), Kloramfenikol (C), Moksifloksasin (MXF) antibiyotik diskleri Bioanalyse (Tıbbi Malzeme San. Tic. Ltd. Şti, Türkiye) firmasından tedarik edilmiştir. Bu antibiyotiklerin disk içerikleri Tablo 1'de verildi.

Tablo 1. Kullanılan antibiyotik diskleri, konsantrasyonları ve inhibisyon zon çaplarının değerlendirilmesi.

Antibiyotik Diskleri	Kısaltması	Disk İçeriği (µg)	Zon Çapı (mm)		
			R (Dirençli)	I (Orta duyarlı)	S Duyarlı
Amoksisilin/klavulanik asit	AMC	20/10	≤18		≥19
Imipenem	IPM	10	≤16	17-21	≥22
Ofloksacin	OFX	5	≤21	22-23	≥24
Sefuroksim	CXM	30	≤18		≥19
Aztreonam	ATM	30	≤20	21-25	≥26
Sefotaksim	CTX	30	≤16	17-19	≥20
Ertapenem	ETP	10	≤24		≥25
Nalidiksik asid	NA	30	≤13	14-18	≥19
Kanamisin	K	30	≤13	14-17	≥18
Sefepim	FEP	30	≤23	24-26	≥27
Seftazidim	CAZ	30	≤18	19-21	≥22
Meropenem	MEM	10	≤15	16-21	≥22
Gentamisin	CN	10	≤13	14-16	≥17
Tetrasiklin	TE	30	≤14	15-18	≥19
Amikasin	AK	30	≤14	16-17	≥18
Siprofloksasin	CIP	5	≤21	22-24	≥25
Ampisilin	AM	10	≤13		≥14
Norfloksasin	NOR	10	≤18	19-21	≥22
Kloramfenikol	C	30	≤16		≥17
Moksifloksasin	MXF	5	≤21		≥22

2.3. Multipleks PZR için Kullanılan Malzeme ve Ekipmanlar

Multipleks PZR, 96 örnek kapasiteli Thermo Master Cycler Gradient PZR cihazında gerçekleştirildi. MgCl₂ (25mM), Taq DNA polimeraz (5U/ µl), 10X Taq

Buffer, 10mM deoksinükleotid trifosfat (dNTP) set (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermentas) kullanıldı. Multipleks PZR çalışmasında kullanılan primerler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. GSBL ve biyofilm genlerini belirlemek için kullanılan primerler.

Primerler	Primer sekansları 5' → 3'	Genler	Büyükliği (baz çifti)	Referans
CTX-M IV F CTX-M IV R	GACAAAGAGAGTGCAACGGATG TCAGTGCATCCAGACGAAA	<i>blaCTX-M IV</i>	501 bç	(Uysal ve ark., 2018)
TEM F TEM R	AGTGCTGCCATAACCATGAGTG CTGACTCCCCGTCGTGTAGATA	<i>blaTEM</i>	431 bç	
OXA F OXA R	ATTATCTACAGCAGCGCCAGTG TGCATCCACGTCTTTGGTG	<i>blaOXA</i>	296 bç	
SHV F SHV R	GATGAACGCTTTCCCATGATG CGCTGTTATCGCTCATGGTAA	<i>blaSHV</i>	214 bç	

2.4. Suşların Chromocult TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar besiyeri ile identifikasyonu

Klinik örneklerden izole edilen suşların *E. coli* olup olmadıklarını doğrulamak için, izolatlar Chromocult TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar besiyerine tek koloni pasajı yapıldı. 24 saatlik inkübasyondan sonra saflığı doğrulandı. Saf kültür olarak üremiş olan kolonilerden triptik soy broth besiyerine ekim yapılarak 24 saat inkübe edildi ve 1:20 oranında gliserol içeren triptik soy broth besiyerinde -80°C’de muhafaza edildi. Stokta saf kültür olarak bulunan kolonilerin üremesi için hazırlanan ve steril edilen TSB besiyerine aseptik koşullarda ekim yapılarak 37°C’de 24 saat inkübasyon sağlandı. Chromocult TBX Besiyeri bileşimindeki kromojen substrat 5-bromo-4-kloro-3-indolil-β-D-glukuronid (X-β-D-glukuronid) *E. coli*’deki β-D-glukuronidaz enzimi ile 5-bromo-4-kloro-3-indolil ve β-D-glukuronid’e parçalanır, sonuç olarak *E. coli* kolonileri mavi-yeşil renkli olarak görülür. Yapılan bu test ile *E. coli* olduğu doğrulanan suşlar tez çalışmasında kullanıldı (Uysal ve Durak, 2012).

2.5. Disk Difüzyon Yöntemi

İdentifikasyonları tamamlanan ve saflaştırılan bakteriler; çeşitli antibiyotiklere duyarlı veya dirençli olup olmadıklarını belirlemek için Kirby-Bauer agar disk difüzyon tekniği kullanıldı. TSB besiyerine

ekim yapılarak yeterli *E. coli* suşlarının gecelik taze kültürleri hazırlandı. Hücre yoğunluğunu, 0.5 McFarland (1x10⁸ Koloni oluşturan birim (kob) /ml bulanıklığında olacak şekilde) skalasına göre ayarlamak için steril % 0.9 serum fizyolojik kullanıldı. Hücre yoğunluğu (bulanıklığı) 0.5 McFarland ile eşleşecek şekilde standardize edilen kültür; steril eküvyon çubuğu ile MHA besiyeri plakalarına yayma ekim yöntemi ile inoküle edildi. Tablo 2.1.’de içerikleri belirtilen antibiyotik diskler, inokülasyondan 10-15 dakika sonra plakalara steril pens ile diskler arasında 25-30 mm mesafe bırakılacak şekilde aseptik şartlarda yerleştirildi. Plakalar 37°C’de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. İnhibisyon bölgesi çapları en yakın milimetreye kadar, aydınlık ortamda cetvelle ölçüldü (Uysal ve ark., 2018).

Zon çapları değerlendirilmesinde European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2019) ve Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2011) kriterleri esas alınarak suşlar duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak belirlendi.

2.6. Çift Disk Sinerji Yöntemi

Disk diffüzyon yönteminde olduğu gibi MHA besiyeri plakalarına *E. coli* inoküle edilmiş ve plakalardaki antibiyotik dizilimi şöyle olmuştur; plakaların ortasına Amoksisilin/Klavulanik asit yerleştirilmiş ve sırasıyla çevresine aralarında 30 mm mesafe

birakılarak; Aztreonam, Sefotaksim, Nalidiksik asit, ve Seftazidim yerleştirildi. İnkübasyondan sonra antibiyotiklerden herhangi birinin inhibisyon bölgesinin kenarının klavulanik asit içeren diske doğru açık bir şekilde uzaması (fantom oluşturması), GSBL üretimi için pozitif olarak yorumlandı (Uysal ve ark., 2018).

2.7. *E. coli* Suşlarının DNA İzolasyonu ve GSBL Genlerinin Multipleks ve PZR Yöntemi ile Belirlenmesi

Fenotipik olarak GSBL pozitif ve biyofilm pozitif suşların; bu aktivitelerden sorumlu genlerinin belirlenmesi amacı ile öncelikli olarak DNA'ları izole edildi. İzolasyon için Moore ve ark. (2004) tarafından belirlenen kaynatma yöntemi bazı modifikasyonlarla uygulandı. Bu işlemlerin ardından elde edilen DNA'ların saflık ve miktar kontrolleri nanodrop cihazı ile belirlendi.

GSBL genleri olan *blaCTX-M IV*, *blaSHV*, *blaOXA* ve *blaTEM* multipleks PZR yöntemi ile belirlendi. Multipleks reaksiyonu 1.5 mM MgCl₂, her dNTP'den 100 pmol, her primerden 10 pmol, 2 unit Taq DNA polimeraz (Fermentas) ve 2 µl kalıp DNA ile 10µl hacim içerikli 1x PZR içeren bir deney tamponuyla gerçekleştirildi. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme (termal cycler, Thermo Master Cycler) cihazına yüklenip, istenen programa

ayarlandı. Multipleks PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. GSBL genlerinin belirlenmesi için Multipleks PZR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı.

Basamak	Döngü sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre
Başlangıç Denatürasyon	1	94	5 dk
Denatürasyon	30	94	1 dk
Bağlanma	30	56	1 dk
Uzama	30	72	1dk
Son Uzama	1	72	5 dk

PZR ürünleri, 100 mV'de 1 saat boyunca % 2 (w/v) agaroz jel içinde elektroforez ile ayrıldı ve bir jel görüntüleme sistemi kullanılarak görüntülendi. PZR ampliconlarının boyutu, moleküler ağırlık boyutu markerine (Gene Ruler Ladder SM0371, Fermentas) karşılaştırılarak hesaplandı (Uysal ve ark., 2018).

3. Araştırma Sonuçları

3.1. *E. coli* Suşlarının Kullanılan Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Bu çalışmada teşhisleri yapılan 135 *E. coli* suşunun farklı 20 antibiyotiğe karşı duyarlılığı CLSI ve EUCAST kriterlerine göre değerlendirildi. UPEC suşlarının antibiyogram sonuçları Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli*'lerin kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli (R), orta duyarlı (I) ve duyarlı (S) suş sayıları ve % oranları.

ANTİBİYOTİKLER	R		I		S	
	%	n	%	n	%	n
AMC	28.9	39	0	0	71.1	96
IPM	1.48	2	0	0	98.5	133
OFX	31.1	42	0.74	1	68.1	92
CXM	25.2	34	0	0	74.8	101
ATM	18.5	25	5.19	7	76.3	103
CTX	20.7	28	3.7	5	75.6	102
ETP	5.19	7	0	0	94.1	128
NA	40	54	2.96	4	57	77
K	17	23	30.4	41	52.6	71
FEP	20.7	28	5.19	7	74.1	100
CAZ	18.5	25	3.7	5	77.8	105
MEM	0	0	0	0	100	135
CN	20.7	28	24.4	33	54.8	74
TE	40.7	55	2.96	4	56.3	76
AK	2.22	3	9.63	13	88.1	119
CIP	28.9	39	4.44	6	66.7	90
AM	50.4	68	0	0	49.6	67
NOR	27.4	37	0.74	1	71.9	97
C	13.3	18	0	0	86.7	117
MXF	31.1	42	0	0	68.9	93

Bu tabloya göre kullanılan suşlardan Beta laktam grubundan, Amoksisilin/klavulanik asite (AMC) karşı 39 suş (% 28.9) dirençli, geri kalan 96 suş (% 71.1) ise duyarlı olarak tespit edilirken; Ampisiline (AM) karşı 68 suş (% 50.4) dirençli, 67 suş (% 49.6) duyarlı olarak belirlendi. Suşlar içerisinde en yüksek direnç oranı ise yine Ampisilin antibiyotiğine aittir.

Karbapenem grubundan, İmipeneme (IPM) karşı iki suş (% 1.48) dirençli, Ertapeneme (ETP) karşı yedi suş (% 5.19) dirençli olarak rapor edildi. Bu gruba ait Meropeneme (MEM) karşı herhangi bir

direnç tespit edilmedi ve suşların tamamı duyarlı olarak gözlemlendi.

İkinci kuşak sefalosporin olan Sefuroksime (CXM) karşı 34 suş (% 25.2) dirençli; üçüncü kuşak sefalosporinlerden biri olan Sefotaksime (CTX) karşı 28 suş (% 20.7) dirençli, beş suş (% 3.7) orta duyarlı ve 102 suş (% 75.6) ise duyarlı olarak tespit edildi. Üçüncü kuşak bir diğer sefalosporin olan Seftazidime (CAZ) karşı 25 suş (% 18.5) dirençli, beş suş (% 3.7) orta duyarlı, 105 suş (% 77.8) ise duyarlı olarak belirlenirken; dördüncü kuşak sefalosporin olan Sefepime (FEP) karşı 28 suş (% 20.7) dirençli, yedi suş (% 5.19) orta duyarlı, 100

suş (% 74.1) ise duyarlı olarak gözlemlendi (Tablo 4). Tabloda da görüldüğü üzere UPEC suşlarının sefalosporin grubu antibiyotikler arasında en yüksek direnci (% 25.2) Sefuroksime, ikinci sırada ise % 20.7 direnç oranı ile Sefepim ve Sefotaksime karşı gösterdiği ortaya koyuldu.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerden Amikasine (AK) karşı üç suş (% 2.22) dirençli, 13 suş (% 9.63) orta duyarlı ve 119 suş (% 88.1) ise duyarlı olarak gözlemlenmiştir. Aynı gruptan Gentamisine (CN) karşı 28 suş (% 20.7) dirençli, 33 suş (% 24.4) orta duyarlı ve 74 suş (% 54.8) ise duyarlı olarak tespit edilmiştir. Grubun bir diğer üyesi olan Kanamisine (K) karşı 23 suş (% 17) dirençli, 41 suş (% 30.4) orta duyarlı, 71 suş (% 52.6) ise duyarlı olarak belirlendi.

Tetrasikline (TE) karşı 55 suş (% 40.7) dirençli, dört suş (% 2.96) orta duyarlı ve 76 suş (% 56.3) ise duyarlı olarak belirlendi. Bu antibiyotiğe karşı görülen direnç oranı suşlar arasındaki en yüksek ikinci oran olarak rapor edildi (Tablo 4).

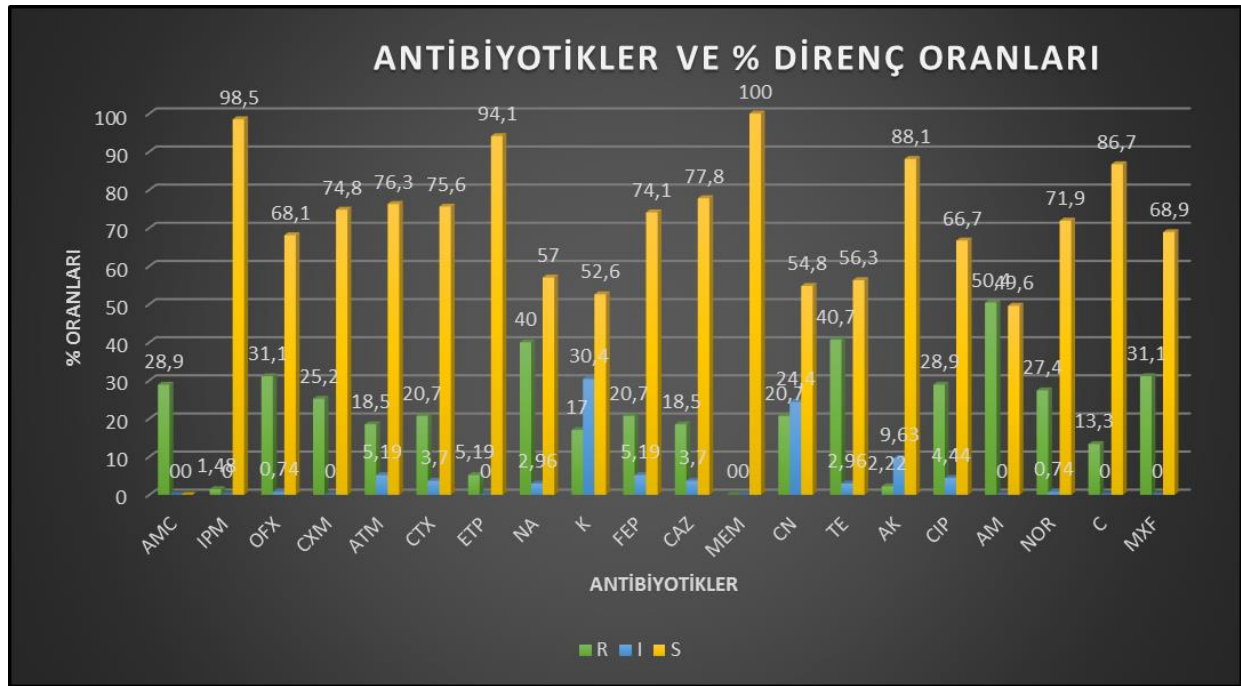
Kinolon grubu antibiyotiklere verilen tepkiler değerlendirildiğinde; Ofloksasine (OFX) karşı 42 suş (% 31.1) dirençli, bir suş (% 0.74) orta duyarlı ve 92 suş (% 68.1) duyarlı olarak belirlenirken; grubun diğer bir üyesi olan Nalidiksik aside (NA) karşı 54 suş (% 40) dirençli, dört suş (% 2.96) orta duyarlı ve 77 suş (% 57) duyarlı olarak

belirlendi. Norfloksasine (NOR) karşı 37 suş (% 27.4) dirençli, bir suş (% 0.74) orta duyarlı ve 97 suş (% 71.9) ise duyarlı olarak tespit edilmiştir. Moksifloksasin'e (MXF) karşı 42 suş (% 31.1) dirençli, 93 suş (% 68.9) duyarlı olarak kabul edildi (Tablo 4).

İkinci kuşak kinolon grubu antibiyotiklerden olan Siprofloksasine (CIP) karşı 39 suş (% 28.9) dirençli, altı suş (% 4.44) orta duyarlı ve 90 suş (% 66.7) ise duyarlı olarak belirlendi.

Monobaktam grubundan ise Aztreonam'a (ATM) karşı 25 suş (% 18.5) dirençli, yedi suş (% 5.19) orta duyarlı ve 103 suş (% 76.3) ise duyarlı olarak saptandı.

Amfenikoller grubundan olan Kloramfenikol'a (C) karşı 18 suş (% 13.3) dirençli, 117 suş (% 86.7) duyarlı olarak belirlenmiştir. *E. coli* suşlarının dirençli, orta duyarlı ve duyarlı sayılarının % oranları Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. UPEC suşlarının dirençli, orta duyarlı ve duyarlı sayılarının % oranları.

Buradan elde edilen verilere göre Amoksisilin/Klavulanik asit ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* Siprofloksasin (% 28.9) olduğu söylenebilir. suşlarının en çok direnç gösterdiği *E. coli* suşlarının çoklu antibiyotik antibiyotiklerin sırasıyla; Ampisilin (% 50.4), direnç indeksi ve dirençli olduğu Tetrasiklin (% 40.7), Nalidiksik asit (% 40), antibiyotiklere göre direnç profili Tablo 5’de Ofloksasin ve Moksifloksasin (% 31.1), verilmiştir.

Tablo 5. *E. coli* suşlarının direnç profilleri, suş sayıları, çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi, GSBL özelliklerinin dağılımı.

Direnç Tipi (Rezisto tip)	DİRENÇ PROFİLİ	SUŞ SAYI SI	SUŞ NO	ÇAD İndeksi	GSBL
1	ETP	3	AE 8, 22,39	0.05	
2	CIP	1	AE 25	0.05	
3	C	1	AE 27	0.05	
4	NA	1	AE 33	0.05	
5	CN	2	AE 40,58	0.05	
6	TE	3	AE 46,67,100	0.05	
7	MXF	1	AE 78	0.05	
8	AK	1	AE 113	0.05	
9	AMC	1	AE 131	0.05	
10	AM	1	AE 135	0,05	

Üropatojenik *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Direnç Profilleri ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Özelliklerinin Değerlendirilmesi

11	AM, TE	4	AE 32*,62,63 ,111	0.1	*TEM, OXA
12	AMC,AM	3	AE 53,79,121	0.1	
13	NA,TE	1	AE 99	0.1	
14	AM,NA,TE	2	AE 34,115	0.15	
15	AMC,AM,C	1	AE 125	0.15	
16	AM,AMC,NA	1	AE 133	0.15	
17	IPM,CN,TE,AK	1	AE 3	0.2	
18	AMC,TE,AM,C	1	AE 19	0.2	
19	NA,TE,AM,C	1	AE 30	0.2	
20	CXM,CTX,FEP,AM	2	AE 31, AE90*	0.2	*TEM
21	OFX,NA,TE,AM	1	AE 61	0.2	
22	AMC,NA,TE,AM	1	AE 126	0.2	
23	AMC,CN,TE,AM	1	AE 127	0.2	
24	AMC,NA,CN,TE,AM	1	AE 72	0.25	
25	OFX,NA,CIP,NOR,MXF	1	AE 74	0.25	
26	NA,K,CN,TE,C	2	AE 101, 110	0.25	
27	OFX,NA,K,TE,AM	1	AE 117	0.25	
28	CXM,ATM,CTX,NA,FEP,AM	1	AE 71	0.3	TEM
29	AMC,NA,K,TE,AM,MXF	1	AE 103	0.3	
30	AMC,OFX,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 108	0.3	
31	OFX,NA,K,CN,CIP,C,MXF	1	AE 37	0.35	
32	OFX,CXM,NA,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 51	0.35	CTXM, TEM
33	CXM,ATM,FEP,CAZ,TE,AM,MXF	1	AE 57	0.35	TEM
34	CXM,ATM,CTX,FEP,CAZ,TE,AM	1	AE 69	0.35	TEM, OXA
35	OFX,NA,TE,CIP,AM,NOR,MXF	2	AE 94,96	0.35	
36	AMC,OFX,NA,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 129	0.35	
37	OFX,K,CN,TE,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 35	0.4	
38	OFX,NA,CN,TE,CIP,AM,NOR,MXF	2	AE 50,52	0.4	
39	AMC,OFX,NA,K,TE,AM,C,MXF	1	AE 82	0.4	
40	AMC,CXM,ATM,CTX,FEP,CAZ,TE,AM	1	AE 112	0.4	
41	AMC,OFX,NA,TE,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 122	0.4	
42	AMC,OFX,CXM,NA,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 130	0.4	
43	OFX,CXM,CTX,CN,TE,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 21	0.45	TEM, OXA
44	AMC,CXM,NA,FEP,CN,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 24	0.45	
45	OFX,NA,K,TE,CIP,AM,NOR,C,MXF	1	AE 48	0.45	
46	OFX,NA,CN,TE,CIP,AM,NOR,C,MXF	1	AE 91	0.45	
47	AMC,CXM,ATM,CTX,FEP,CAZ,TE,AM,C	1	AE 98	0.45	CTXM, TEM
48	AMC,CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CAZ,TE,AM	1	AE 104	0.45	
49	CXM,ATM,CTX,NA,FEP,CAZ,CN,AM,C	1	AE 116	0.45	TEM
50	OFX,CXM,NA,FEP,CAZ,CN,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 2	0.5	
51	AMC,OFX,CXM,NA,CN,TE,CIP,AM,NOR,MXF	1	AE 18	0.5	

52	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, FEP, CAZ, TE, AM	1	AE 28	0.5	
53	OFX, NA, K, CN, TE, CIP, AM, NOR, C, MXF	2	AE 36,95	0.5	
54	AMC, OFX, NA, K, CN, TE, CIP, AM, NOR, C, MXF	1	AE 41	0.55	
55	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, FEP, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 49	0.55	TEM
56	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, FEP, CAZ, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 59	0.6	TEM, OXA
57	AMC, IPM, OFX, CXM, ATM, CTX, ETP, NA, K, FEP, CAZ, TE, AM	1	AE 4	0.65	TEM
58	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, FEP, CAZ, CN, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 9	0.65	
59	OFX, CXM, ATM, CTX, NA, K, FEP, CAZ, TE, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 45	0.65	
60	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, K, CAZ, TE, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 76	0.65	
61	AMC, OFX, CXM, CTX, NA, K, FEP, CAZ, TE, CIP, AM, NOR, C, MXF	1	AE 10	0.7	
62	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, K, FEP, CAZ, TE, CIP, AM, NOR, MXF	2	AE 60*,92	0.7	*TEM, OXA
63	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, FEP, CAZ, CN, TE, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 83	0.7	
64	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, ETP, NA, FEP, CAZ, CN, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 114	0.7	
65	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, ETP, NA, FEP, CAZ, TE, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 128	0.7	
66	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, K, FEP, CAZ, CN, TE, CIP, AM, NOR, MXF	3	AE 54, 102*,124	0.75	*TEM
67	OFX, CXM, ATM, CTX, NA, K, FEP, CAZ, CN, TE, CIP, AM, NOR, C, MXF	1	AE 86	0.75	TEM
68	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, K, CAZ, TE, AK, CIP, AM, NOR, C, MXF	1	AE 134	0.75	
69	AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, ETP, NA, K, FEP, CAZ, CN, TE, CIP, AM, NOR, MXF	1	AE 23	0.8	

İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen suşlar arasında birbirinden farklı 69 direnç profili tespit edildi. Bunlar içerisinde en yaygın profillerin durumları şöyledir: AE 32, 62, 63, 111 no'lu suşların iki farklı antibiyotiğe (AM, TE) karşı gözlenen direnç profili baskın profil olarak belirlendi. Bu profilin suşlar arasındaki dağılımı % 2.96 ve ÇAD indeksi ise 0.1 olarak tespit edilmiştir. ETP'ye direnç gösteren üç suş (AE 8, 22, 39) belirlendi. Bu suşların çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi 0.05 ve profilin suşlar arasındaki dağılımı ise % 2.2 olarak saptandı. AE 46, 67, 100 no'lu suşların bir antibiyotiğe (TE) direnç gösterdiği ve bu profilin suşlar arasındaki dağılımının % 2.22 olduğu görüldü. İki farklı antibiyotiğe (AMC, AM) karşı gösterilen direnç profili üç suşta

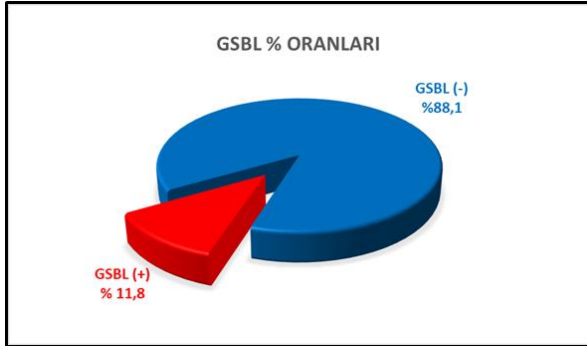
gözlemlendi (% 2.22). Bu profili gösteren AE 53, 79, 121 no'lu suşlar olup ÇAD indeksleri 0.1 olarak belirlendi. On beş farklı antibiyotiğe (AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, NA, K, FEP, CAZ, CN, TE, CIP, AM, NOR, MXF) karşı gösterilen direnç profili üç suşta gözlemlendi (% 2.22). Bu profili gösteren AE 54, 102, 124 no'lu suşlar olup ÇAD indeksleri 0.75 olarak belirlendi. Sayıca en çok antibiyotiğe direnç gösteren, AE 23 no'lu suş olup, 16 antibiyotiğe (AMC, OFX, CXM, ATM, CTX, ETP, NA, K, FEP, CAZ, CN, TE, CIP, AM, NOR, MXF) dirençli olduğu belirlendi. ÇAD indeksi 0.8 olarak tespit edildi ve bu değer suşlar içerisindeki en yüksek değer olduğu belirtildi.

Suşların geneline bakıldığında, tek antibiyotiği kapsayan 10, iki antibiyotiği

kapsayan üç, üç antibiyotiği kapsayan üç, dört antibiyotiği kapsayan yedi, beş antibiyotiği kapsayan dört, altı antibiyotiği kapsayan üç, yedi antibiyotiği kapsayan altı, sekiz antibiyotiği kapsayan beş, dokuz antibiyotiği kapsayan yedi, 10 antibiyotiği kapsayan dört, 11 antibiyotiği kapsayan iki, 12 antibiyotiği kapsayan bir, 13 antibiyotiği kapsayan dört, 14 antibiyotiği kapsayan beş, 15 antibiyotiği kapsayan üç, 16 antibiyotiği kapsayan bir direnç profili belirlendi (Tablo 5).

3.2. *E. coli* Suşlarının GSBL Üretimini Fenotipik ve Genotipik Olarak Belirlenmesi

E. coli suşların GSBL pozitif veya negatif olduğunun tespiti için çift disk sinerji yöntemi kullanıldı. Sonuç olarak suşların 16 adedi (% 11.8) GSBL pozitif ve 119 adedi (% 88.1) GSBL negatif olduğu gözlemlendi (Şekil 2).



Şekil 2. *E. coli* suşlarının GSBL pozitif ve negatif % oranları.

GSBL üreten suş sayıları düşük olmasına rağmen (% 11.8), bu suşlar beklendiği gibi en az iki veya daha fazla antibiyotiğe dirençliydi. AE 32 numaralı suş

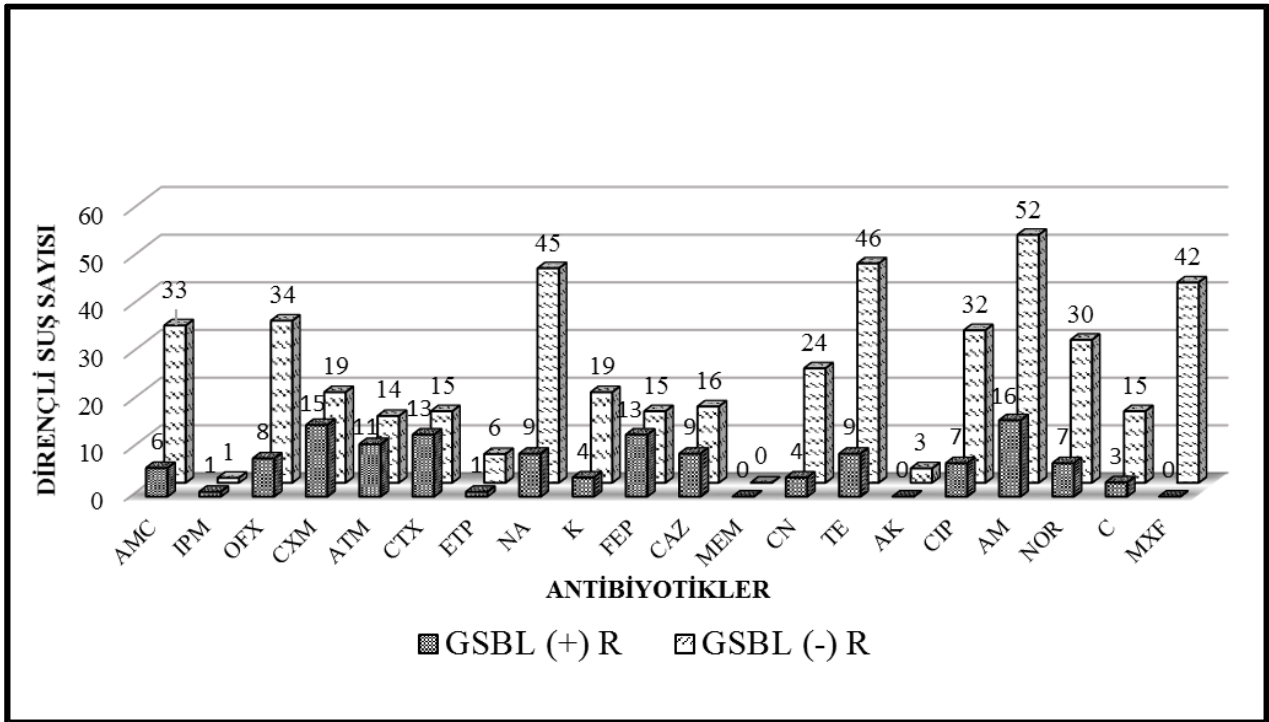
iki antibiyotiğe direnç gösterdi. AE 31 ve 90 numaralı suşlar dört antibiyotiğe; AE 71 numaralı suş altı antibiyotiğe direnç sergiledi. AE 51, 57, ve 69 numaralı suşlar yedi antibiyotiğe; AE 21, 98 ve 116 numaralı suşlar dokuz antibiyotiğe; AE 49 numaralı suş 11 antibiyotiğe; AE 59 numaralı suş 12 antibiyotiğe; AE 4 numaralı suş 13 antibiyotiğe; AE 60 numaralı suş 14 antibiyotiğe direnç gösterdi. Bunu takiben AE 86 ve 102 numaralı suşlar 15 antibiyotiğe direnç gösterdiği belirlendi (Tablo 5).

GSBL üreten suşların en fazla Ampisiline (16 suş), ikinci sırada sefuroksime (15 suş), üçüncü sırada Sefepime ve Sefotaksime (13 suş), dördüncü sırada Aztreonama (11 suş) dirençli oldukları belirlendi. GSBL (+) suşların tamamının Meropenem ve Amikasinine karşı herhangi bir direnç göstermedikleri tespit edildi (Şekil 3). Çift disk sinerji metodu ile GSBL (+) oldukları tespit edilen 16 suşun, genotipik olarak da hangi GSBL genleri ile ifade edildiklerinin tespiti amacı ile multipleks PZR yöntemi kullanıldı. Bu yöntem ile *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaSHV*, *blaOXA* beta laktamaz genlerinin tespiti yapıldı. GSBL genleri ihtiva eden suşların hangi genleri taşıdığı Tablo 5’de gösterildi. PZR ürünlerinin tahmini boyutları olan 501 bç, 431 bç ve 296 bç; elektroforez işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü üzerinde belirlendi (Şekil 4).

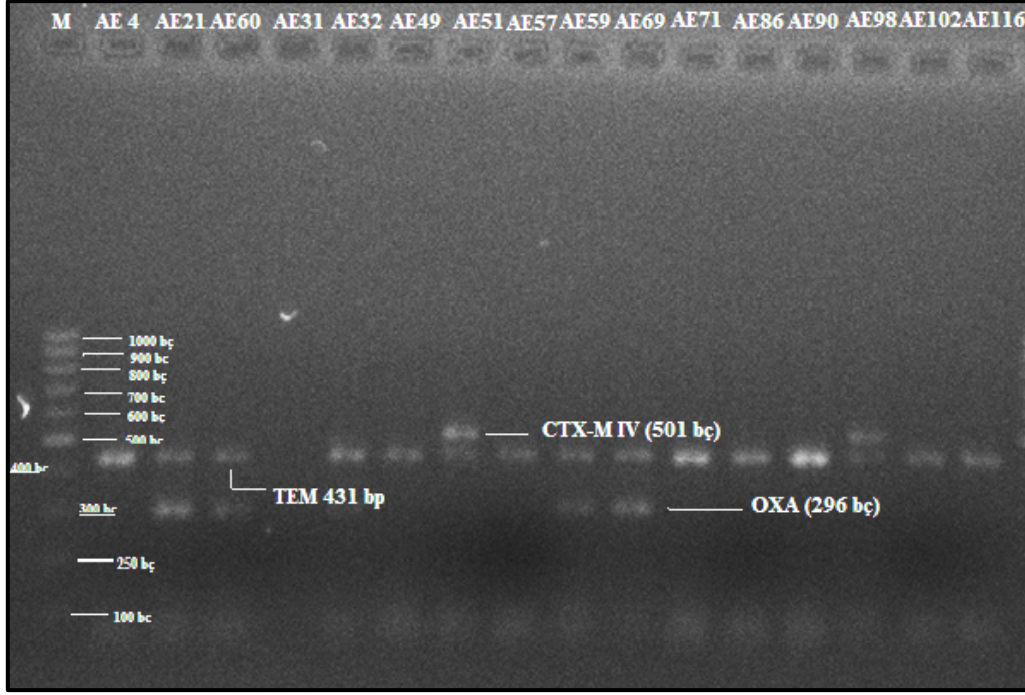
Buna göre fenotipik olarak 16 GSBL pozitif suştan 15'i genotipte doğrulanırken sadece bir suşun test edilen primerlere karşı negatif olduğu yani bu gen gruplarından biri ile ifade edilmediği belirlendi.

GSBL pozitif suşlardan AE 31 nolu suş hariç diğerleri (AE 4, 21, 32, 49, 51, 57, 59, 60, 69, 71, 86, 90, 98, 102 ve 116) *blaTEM* genini taşıdığı gözlemlendi. AE 21,

32, 59, 60, 69 nolu suşların *blaTEM* ile birlikte *blaOXA* genini birlikte taşıdığı belirlendi. AE 51 ve AE 98 nolu suşların ise *bla CTX-M IV* ve *blaTEM* genleri ile birlikte ifade edildiği gözlemlendi. Fenotipik olarak GSBL pozitif olarak belirlenen suşların hiçbirinde *blaSHV* genine rastlanmadı (Şekil 4).



Şekil 3. GSBL üreten (+) ve GSBL üretmeyen (-) dirençli suş sayıları.



Şekil 4. Fenotipik olarak GSBL ürettiği doğrulanan suşların (AE4, 21, 60, 31, 32, 49, 51, 57, 59, 69, 71, 86, 90, 98, 102, 116) GSBL genlerini gösteren jel görüntüsü. Gene Ruler Ladder büyüklük markeri olarak kullanıldı (SM0371, Fermentas).

4. Tartışma

Enterobacteriaceae ailesi üyeleri, İYE vakalarında izole edilen bakterilerin % 90'ından fazlasını oluşturur. Ayrıca, enterobakteriler, diğer bakteri türlerinden ve parazitlerden farklı olarak insanların normal bağırsak mikrobiotasının bir parçasıdır. Ek olarak, enterobakteriler, İYE'ler de dahil olmak üzere son yıllarda insan enfeksiyonlarında en çok etkin rol üstlenen bakteri türleridir. Bu çok yüksek oran; enterobakterilerin enfekte olmuş dokularla etkileşimine bağlıdır. Bu etkileşim, basit bir bağlanma ile başlayabilir, istila ve hücre lizisine kadar uzanır. Bu etkileşimler, mikroorganizmaların patojenitede etkili bazı aktif maddelerin sentezine neden olur. Bu bakterilerin patojenisitesi, fimbria, O

antijenleri, K kapsüler antijenleri, serum direnci, hemoliz üretimi ve diğerleri yoluyla operatif adezinler gibi çoklu virülans genlerinin varlığına bağlıdır. İYE antibiyotiklerle tedavi edilebilir; bununla birlikte, bakterilerin antibiyotiklere karşı çoklu direnç mekanizması İYE'nin yönetimi için bir tehdittir (Dougnon ve ark., 2020).

Gram-negatif patojenlerde antibiyotik direnci, daha yüksek sağlık maliyetleri ve ölüm oranları, tedavi başarısızlıkları ve daha uzun bir klinik hastalık süresine katkıda bulunan küresel bir endişedir. Pek çok bakteriyel enfeksiyon antibiyotiklerle tedavi edildiğinden, birçok bakteri antibiyotiklerin öldürme mekanizmasına direnmenin yollarını geliştirmiştir. *E. coli* için, antibiyotiklerin

aşırı kullanımı ve yanlış kullanımından dolayı antibiyotik direnci daha yaygın hale gelmiştir. Dahası, *E. coli*, sadece birbirleriyle değil, aynı zamanda insan ve hayvanların diğer enterik patojenleri ile verimli bir şekilde değiştirilen direnç genlerinin rezervuarları olarak da hizmet edebilir (van den Bogaard ve ark., 2001). Dünya çapında, geniş spektrumlu β -laktamaz veya karbapenemaz enzimleri üreten Enterobacteriaceae prevalansı endişe verici oranlarda artmaya devam etmektedir (Zowawi ve ark., 2015). Komensal *E. coli*'de direnç prevalansı, insanlardan ve çevreden gelen bakteri izolatlarında antibiyotik direncinin yararlı bir göstergesi olduğundan, *E. coli*'nin antibiyotik direncinin rutin olarak izlenmesi antibiyotik tedavisi ve direnç kontrolü için veri sağlar (OBrien, 1997).

Bu çalışmada İYE'lerden izole ve tanımlanmış 135 *E. coli* suşunun 20 farklı antibiyotiğe karşı direnç ve duyarlılıkları, GSBL enzim varlığının fenotipik ve genotipik tespiti yapıldı. Elde edilen veriler doğrultusunda suşların antibiyotiklere direnci en yüksek oranda Ampisiline % 50.4; ikinci sırada Tetrasikline % 40.7; üçüncü sırada Nalidiksik asite % 40; dördüncü olarak Ofloksasin ve Moksifloksasine % 31.1; beşinci sırada Amoksisilin-Klavulanik asit ve Siprofloksasine % 28.9; altıncı sırada ise Norfloksasine % 27.4 oranında belirlendi

(Şekil 1). Suşların tamamı bir Karbapenem olan Meropeneme karşı duyarlı olarak belirlenirken bunu ikinci sırada yine bir Karbapenem olan İmipenem % 1.48 ve üçüncü sırada aminoglikozit bir antibiyotik olan Amikasinin % 2.2 gibi bir oranla takip ettiği görüldü. Elde edilen veriler doğrultusunda suşların özellikle karbapenem grubu ve aminoglikozit grubu antibiyotiklere kinolon gruplarından daha duyarlı oldukları söylenebilir. Benzer şekilde çalışmamızda kullanılan ikinci (Sefuroksim), üçüncü (Sefotaksim ve Seftazidim) ve dördüncü (Sefepim) kuşak sefalosporinlerin yine kinolon grubu antibiyotiklerden daha etkili olduğu düşünülebilir (Tablo 4).

Suşların hangi antibiyotiklere tekli ya da çoklu dirençli olduğunu belirlemek amacı ile direnç profili (rezisto tip) tablosu oluşturuldu (Tablo 5). Bu tabloya göre en az bir veya daha fazla antibiyotiğe direnç gösteren 88 suş (toplam suşların % 65.18'i) içerisinde 69 farklı direnç tipi (rezisto tip) belirlendi. Bunların pek çoğunun sadece birer suş ile temsil edildiği görüldü. En fazla suş ile temsil edilen rezisto tip iki antibiyotiğe dirençli ve dört suş ile rezisto tip 11 olmuştur. On antibiyotiğe direnç gösteren rezisto tip 53 iki suş ile temsil edilirken; 14 antibiyotiğe direnç gösteren rezisto tip 62 iki suş; 15 antibiyotiğe direnç gösteren rezisto tip 66 ise üç suş ile temsil edildi. Suşlar arasında sadece bir suş 16 antibiyotiğe direnç gösterilen rezisto tip 69

profilini gösterdi. Çalışmamızda kullanılan suşlar arasında 69 farklı direnç profilinin görülmesi direnç yönünden suşların oldukça geniş bir spektrum ortaya koyduğunun bir göstergesidir. Uysal ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada 97 UPEC suşunda 44 farklı direnç profili belirlenmiştir. Mevcut çalışmamızda bu direnç profili sayısı araştırmacılarınkinden daha fazla görüldü. Ayrıca Tablo 5’de çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi değerleri de Krumperman (1983)’a göre hesaplandı. Buna göre; ÇAD indeksi 0.2 değerinden büyük olan suşların, dirençli oldukları antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı bölgelerden geldiği savunulmaktadır. Çalışmamızdaki ÇAD indeksi 0.2 den daha büyük suş sayısının 53 adet olduğu görülmüştür. Dirençli 88 suşun 53’ü yani % 60.22’si en az beş en fazla 16 antibiyotiğe direnç göstermiş ve bu antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı bölgelerden geldiği düşünülmüştür. Bu durum ise kontrolsüz ve bilinçsiz antibiyotik kullanımının bir göstergesi olabilir.

Yapılan bir çalışmada Bijapur ve ark. (2015), *E. coli* suşlarında direnç oranlarını ampisilin % 91.66; sefuroksim % 82.29; sefotaksim % 79.16; siprofloksasin % 75 şeklinde belirlemiştir. Bununla birlikte, Imipenem ve Meropenem karşı herhangi bir direnç belirlememiştir. Çalışmamızdan elde edilen verilerle (% 50.4 Ampisilin, % 25.2 Sefuroksim, % 20.7 Sefotaksim, %

28.9 Siprofloksasin) kıyaslandığında araştırmacının direnç oranları çalışmamızda tespit edilenlere göre oldukça yüksek olarak düşünüldü. Ayrıca çalışmamızdaki suşlarda Meropenem ve Imipenem direnç hususunda benzer değerler ortaya koydu. Kudinha ve ark. (2013) 953 *E. coli* izolatının % 47.63’ünün tetrasikline ve % 33.47’sinin Sefalotine dirençli olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca araştırmacılar, toplam izolatların % 6.4’ünün GSBL üreten suşlar olduğunu belirlediler. Ancak çalışmamızda GSBL üreten suşların oranı % 11.8 ile araştırmacının sonuçlarından yüksek bulunurken tetrasikline karşı direnç (% 40.7) araştırmacıların sonuçlarıyla oldukça uyum gösterdi. Lu ve ark. (2012), İYE’den izole edilen toplam 1762 *Enterobacteriace* ailesi üyesi suşun (995 *E. coli* suşları) Asya / Pasifik Bölgesindeki antibiyotiklere yatkınlıkları açısından değerlendirildiğini ve Amikasinin suşlara en fazla etkili antimikrobiyal ajan olduğunu belirlemiştir. Bu izolatlar Sefotaksim, Seftriakson, Seftazidim, Sefepim, Siprofloksasin ve Levofloksasine (<% 70) daha az duyarlıdır. Ayrıca suşlar içerisinde GSBL üretim oranını % 67 olarak saptamıştır. Bu oran çalışmamızdan elde edilen % 11.8 nın yaklaşık 5.7 katıdır. Çalışmamızda ise 135 *E. coli* suşuna karşı en etkili ajanların sırasıyla Meropenem, Imipenem ve Amikasin onu takiben de Ertapenem olduğu belirlendi. Bu verilere göre mevcut

çalışmamızda suşların karbapenem grubu antibiyotiklere daha duyarlı oldukları sonucuna varılabilir. Uysal ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada 97 UPEC suşunun kullanılan antibiyotikler arasında en fazla Sefalotine (% 54.6), sırasıyla Tetrasikline (% 53.6), Nalidiksik Asite (% 44.3), Azteronam ve Ofloksasine (% 29.8) karşı dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca suşların % 13.4 oranında GSBL ürettiğini ve bu üretilen enzimler için suşlardan ikisinin *blaCTX-M*, altısının *blaTEM*, beşinin *blaOXA* ve birinin ise hem *blaTEM* hem de *blaSHV* genleri yönünden pozitif olduklarını ortaya koymuşlardır. Mevcut çalışmamız değerlendirildiğinde suşlarımızın araştırmacıların bulduğu Nalidiksik Asit ve Ofloksasin dirençlerine oldukça yakın oranlar ortaya koyduğu görüldü. GSBL üreten suş oranları ile kıyaslandığında ise oldukça yakın bir oran belirlendi (% 11.8). GSBL pozitif suşlardan biri hariç 15'inin *blaTEM*, beş suşun *blaTEM* ve *blaOXA*, iki suşun ise *blaCTX-M* ve *blaTEM* genlerini birlikte bulundurduğu görüldü. *blaTEM* geni ağırlıklı olarak görülmesine rağmen *blaSHV* genine rastlanmadı. Başka bir çalışmada Rehab ve ark. (2019) toplam 168 *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşunda 113'ünde GSBL pozitifliğini fenotipik olarak belirlemişler ve bu suşların da % 95.58'inin genotipik olarak da *blaTEM*, *blaSHV* ve *blaCTX-M* genleri taşıdığını saptamışlardır. Suşların antibiyotik

direnç oranlarının ise en fazla olarak üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı gösterildiği; ayrıca en fazla duyarlılığın ise Meropenem ve Imipeneme karşı gösterildiğini vurgulamışlardır. van Driel ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada idrar yolları enfeksiyonundan izole edilen suşların % 83'ünden *E. coli* suşlarının sorumlu olduğunu belirtmişler ve 2004-2009-2014 yılları arasında her 5 yılda bir yapılan antibiyotik duyarlılık durumlarını mevcut çalışmaları ile kıyaslamışlardır. Antibiyotik duyarlılığı bakımından suşların Siprofloksasin dışında zaman içinde stabil olduğunu (2004'te % 96, 2009'da % 97 ve 2014'te % 94; P <0.05); ko-amoksiklav duyarlılığı 2004, 2009 ve 2014 yıllarında sırasıyla % 88, % 87 ve % 92 şeklinde yükseldiğini; GSBL üreten *E. coli* prevalansı 2004'te % 0.1'den 2014'te % 2.2'ye yükseldiğini rapor etmişlerdir. Test edilen çoğu antimikrobiyal ajana duyarlılık yüzdeleri, *E. coli* ve GSBL'lerin prevalansı önemli ölçüde artmasına rağmen, 10 yıllık süre boyunca stabil olduğunu ortaya koymuşlardır. Lübnan'ın Beyrut kentinde gebe kadınlardan izole edilen GSBL üreten bakterileri fenotipik ve genotipik karakterizasyonlarını incelemek ve GSBL kolonizasyonunun araştırıldığı bir çalışmada Gaddar ve ark. (2020) 59 *E. coli* suşunun çoğu, % 93.2'lik bir duyarlılık ile Meropenem ve Imipeneme karşı oldukça duyarlı bulunmuştur. En fazla direnç

Aztreonam, Sefepim ve Sulfometaksazole karşı belirlenmiştir. Ayrıca GSBL genlerinden *blaCTX-M* baskın gen (% 90.7), ardından *blaTEM* (% 88.4) ve son olarak *blaSHV* (% 44.2) yer almıştır ve yapılan çalışmadaki gebe kadınlarda GSBL taşıyıcılığı yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde çalışmamızda kullanılan suşlar Meropenem ve Imipeneme oldukça duyarlıdır fakat Aztreonam direnci ise araştırmacıların sonuçlarına göre oldukça düşük bulunmuş; GSBL sonuçlarımızda ise baskın gen *blaTEM* (% 93.75) olarak tespit edilmiştir ve PZR çalışması yapılan suşların 15'inde görülmüştür. Sadece bir suş fenotipte GSBL pozitif olmasına rağmen çalışılan gen gruplarıyla sonuç vermemiştir. Bu durumda suşun farklı bir GSBL geni tarafından ifade edildiği söylenebilir. Ugwu ve ark. (2020) 100 üropatojen üzerinde yaptıkları bir çalışmada 58 *E. coli* izolatında baskın GSBL geninin *blaTEM* olduğunu ve en çok direnç gösterilen antibiyotiğin Kotrimaksazol; en duyarlı oldukları antibiyotiklerin ise Aztreonam ve Seftazidim olduğunu rapor etmişlerdir. Baskın GSBL geninin *blaTEM* olması yönünden sonuçlarımız araştırmacıların sonuçları ile uyumlu olduğu öne sürülebilir. Fakat çalışmamızdaki kinolon direnci araştırmacıların sonuçlarından daha yüksek bulunmuştur.

Avrupa'da yapılan sürveyans çalışmaları 2018 raporuna göre; Avrupa

ülkelerinde üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı en yüksek direnç sıralamasında Bulgaristan % 38.7; Kıbrıs % 37.1; Slovakya % 30.1; İtalya % 28.7; Romanya % 20.2 oranları ile ön sıralarda yer almaktadır. En düşük direnç sıralamasında ise Norveç % 6.8; Hollanda % 7.3; Finlandiya % 7.6; Danimarka % 7.7; İzlanda % 8.1; İsviçre % 8.3; Belçika % 9; Fransa % 9.6; Birleşik Krallık % 11; Almanya da ise % 12.2 oranında direnç bulunmuştur (ECDC, 2019). Mevcut çalışmamızda ise üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç % 18.5-20.7 arasında bulunmuştur. Aynı raporun 2013 versiyonunda ise Türkiye direnç noktasında % 42'lik bir oranda en ön sırada yer almaktadır.

Florokinolon grubu antibiyotiklere Avrupa ülkelerinde en fazla direnç; Kıbrıs % 42.4; Slovakya % 42.1; Malta % 41.9; Bulgaristan % 41.8; İtalya% 41.7 ile sıralanırken en az dirence sahip ülkeler Finlandiya % 11.4; Norveç % 12.9; Danimarka % 13.3; Hollanda % 14.9 ve Fransa % 16.3 şeklinde yer almaktadır (ECDC, 2019). Çalışmamızda florokinolon grubundan olan Ofloksasin % 31.1; Siprofloksasin % 28.9; Norfloksasin ise % 27.4 oranında direnç yüzdesine sahiptir. Bu durum, bu tabloda orta sıranın sonlarında yer almamıza neden olmaktadır. Türkiye 2013 raporunda yine % 52'lik oranla birinci sırada yer almaktadır (Allocati ve ark., 2013). Aminoglikozit gruplarında görülen

direnç en fazla Bulgaristan % 28.4; Slovakya % 21.6; Kıbrıs % 19.9 oranlarında görülürken en az oranlarda Finlandiya, Norveç ve Danimarka'da belirlenmiştir (sırasıyla % 4.3, % 5.7, % 5.7). Çalışmamızda Amikasine % 2.2; Kanamisine % 17; Gentamisine % 20.7 oranında direnç gelişmiştir (Tablo 4). Aminoglikozitlere direnç yönünden kıyaslandığında 2013 raporunda Türkiye % 35'lik bir oranla birinci sırada yer almaktadır (Allocati ve ark., 2013).

GSBL üretimi bakımından dünya geneline bakıldığında 2010 öncesi ve 2010'dan sonraki son 10 yıl içerisinde GSBL oranlarının arttığı görülmüştür. Buna göre İYE enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarında belirlenen GSBL oranları Birleşik Krallıkta % 4.6'dan % 6.6 oranına; Fransa'da % 1.1'den % 3.3 oranına; İspanya'da % 2.4-18.2'den % 8.9-23.69 oranına yükselmiştir. Akdeniz ülkelerinden İtalya'da % 3.5'den % 6.7 oranına; Türkiye'de ise % 8-13.1'den % 24 oranına ulaşmıştır. Güney Asya ülkelerinde % 27.1'den % 33.2'ye; Uzakdoğu Asya'da % 4.8-7.5'den % 7.6-10.7'ye; Latin Amerika ülkelerinde % 1.7'den % 7.1-12.5 oranına; Amerika ve Kanada'da ise % 7.4'den % 1.8-8 oranı arasında değiştiği bildirilmiştir (Lee ve ark., 2018). Mısır'da ise GSBL oranı *E. coli* suşlarında % 59.7 olarak saptanmıştır (Hassuna ve ark., 2020). Yapılan çalışmalar

dünya genelinde GSBL üreten *E. coli* suşlarının arttığını göstermektedir.

Türkiye'de, 2007-2018 döneminde GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin oranı açısından değerlendirildiğinde; Azap ve ark. (2010) GSBL üretim oranını % 11; Yılmaz ve ark. (2009) % 20.2; Kizilca ve ark. (2012) % 43; Azap ve ark. (2013) % 23.5, Aladag ve ark. (2013) % 55; Khorshed ve Arslan (2015) % 20.75; Yılmaz ve ark. (2016) % 24; Uysal ve ark. (2018) % 13.40 olarak rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmamızda ise GSBL üretim oranı % 11.8 olarak belirlenmiş ve diğer araştırmacıların sonuçlarından daha düşük bir oran olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda GSBL genleri açısından en baskın gen *blaTEM* olarak belirlendi ve 16 GSBL pozitif suşun 15'i (% 93.5) bu geni taşıdığı saptandı. Ayrıca bu gen ile birlikte beş suşta *blaOXA*, iki suşta ise *blaCTX-M* bulundurduğu görüldü. Bazı beta laktamaz genlerinin varlığı bildirilmiştir, ancak *blaTEM*, *blaSHV*, *blaOXA* ve *blaCTX-M* tipi GSBL genleri en baskın olanıdır (Bordford, 2001). Kiratisin ve ark. (2008) *blaCTX-M*, *blaTEM* ve *blaSHV* genlerinin, *E. coli* üreten 235 GSBL suşunda % 87.3, % 77 ve % 3.8 oranlarıyla ifade edildiğini ortaya koymuştur. Birkaç suşun *blaOXA* genini taşıdığı belirtilmiştir. CTX-M geninin Avrupa'da TEM ve SHV genleri yerine en sık GSBL geni olduğu bildirilmiştir. PER, GES, IBC ve bazı OXA

türleri gibi diğer GSBL türleri de mevcuttur. GSBL üretimi Avrupa'da Latin Amerika ve Asya'da olduğundan çok daha az ve Pasifik'te Kuzey Amerika'dakinden daha az sıklıkta görülmektedir (Coque ve ark., 2008; Ruppé, 2010). Norveç ve Portekiz'de CTX-M, *E. coli*'de en sık bulunan GSBL enzimidir (Sana ve ark., 2011). Mısır'da Hassuna ve ark. (2020) İYE'ye neden olan *E. coli* suşlarında *blaTEM* oranını % 75, *blaCTX-M* oranını % 56.25 ve *blaSHV* oranını ise % 18.75 olarak belirtmiştir. Mevcut çalışmamızda da en baskın genin *blaTEM* olması yönünden sonuçlarımız uyumlu bulunmuştur.

Türkiye'de Bali ve ark. (2010) 65 GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinde *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M* oranlarının % 73.43, % 21.87 ve % 17.18 olduğunu göstermiştir. Gorgec ve ark. (2015) *E. coli* izolatları arasında *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaOXA-2* grubu, PER, SHV ve OXA-10 grubu beta-laktamaz genlerinin sıklığını sırasıyla % 89.5, % 59.2, % 15.8, % 14.5, % 11.8 ve % 3.9 bulmuştur. Khorshed ve Arslan (2015) 106 *E. coli* izolatından

22'sinin (% 20.75) GSBL için fenotipik olarak pozitif olduğunu bildirirken, *E. coli* izolatlarının 63'ünün (% 59.43) multipleks PZR ile GSBL için pozitif olduğu belirlenmiştir. Uysal ve ark. (2018) *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaOXA*, *blaSHV* gen yüzdelerini sırasıyla % 15.38, % 46.1, % 38.4 ve % 7.7 olarak rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmamızda ise *blaTEM* % 93.5, *blaOXA* % 31.25 ve *blaCTX-M* % 12.5 oranında belirlenmiştir. *blaTEM* ve *blaOXA* oranlarımız diğer araştırmacıların değerlerine göre yüksek olarak görülmüştür.

Sonuç

Antibiyotiklerin rastgele ve gereksiz kullanımı sonucu direncin arttığı bilinmektedir. Bu direnç faktörlerine bir de suşların virülans faktörleri eklendiğinde durumu kontrol altına almak ve mücadele etmek mümkün olmamaktadır. Antibiyotik direnç seviyelerinin takip edilmesi, sürveyans çalışmalarının devamlı olarak yapılması ile ortaya koyulmaktadır. Bu tarz çalışmalar belirli periyotlarla yapılmalı ve takip edilmelidir.

Kaynaklar

- Aladag MO, Uysal A, Dunder N, Durak Y, Gunes E (2013). Characterization of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urinary tract infections: detection of ESBL characteristics, antibiotic susceptibility and RAPD genotyping. *Polish Journal of Microbiology* 62: 401–409.
- Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C (2013). *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health* 10: 6235–6254.

- Azap O, Togan T, Yesilkaya A, Arslan H, Haberal M (2013). Antimicrobial susceptibilities of uropathogen *Escherichia coli* in renal transplant recipients: dramatic increase in ciprofloxacin resistance. *Transplantation Proceedings* 45: 956–957.
- Azap OK, Arslan H, Serefhanoglu K, Colakoglu S, Erdogan H, Timurkaynak F, Senger SS (2010). Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase positivity in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections. *Clinical Microbiology and Infection* 16: 147–151.
- Bali EB, Acik L, Sultan N (2010). Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum beta-lactamase produced by *Escherichia coli*, *Acinobacter baumannii* and *Klebsiella* isolates in a Turkish hospital. *Afr J Microbiol Res* 4: 650–654.
- Bijapur GAM, Maulingkar SV, Greeshma B, Usman SM (2015). Multidrug resistant *Escherichia coli* in nosocomial urinary tract infections at a tertiary care hospital in Kerala, India. *Open Infectious Diseases Journal* 9: 30–34.
- Bordford P (2001). Extended-spectrum b-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews* 14: 933–951.
- Brolund A (2014). Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. *Infect Ecol Epidemiol* 4.
- Bush K, Jacoby GA (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54: 969–976.
- CLSI (2011). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Pennsylvania, USA.
- Coque TM, Baquero F, Canton R (2008). Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill* 13.
- Danino D, Melamed R, Sterer B, Porat N, Hazan G, Gushanski A, Shany E, Greenberg D, Borer A (2018). Mother-to-child transmission of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Hospital Infection* 100: 40–46.
- Doungnon V, Assogba P, Anago E, Déguénon E, Dapuliga C, Agbankpè J, Zin S, Akotègnon R, Moussa LB, Bankolé H (2020). Enterobacteria responsible for urinary infections: a review about pathogenicity, virulence factors and epidemiology. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 8: 117–124.
- ECDC. 2019. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Pages 1–110, Stockholm.
- Ejrnaes K, Stegger M, Reisner A, Ferry S, Monsen T, Holm SE, Lundgren B, Frimodt-Moller N (2011). Characteristics of *Escherichia coli* causing persistence or relapse of urinary tract infections: phylogenetic groups, virulence factors and biofilm formation. *Virulence* 2: 528–537.
- Emody L, Kerényi M, Nagy G (2003). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents* 22(2): 29–33.
- EUCAST 2019. The European committee on antimicrobial susceptibility testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>.

- Gaddar N, Anastasiadis E, Halimeh R, Ghaddar A, Matar GM, Abou Fayad A, Sherri N, Dhar R, AlFouzan W, Yusef H (2020). Phenotypic and genotypic characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by *Escherichia coli* colonizing pregnant women. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology* 1–7.
- Gorgec S, Kuzucu C, Otlu B, Yetkin F, Ersoy Y (2015). Investigation of beta-lactamase genes and clonal relationship among the extended-spectrum beta-lactamase producing nosocomial *Escherichia coli* isolates. *Mikrobiyoloji Bulteni* 49: 15–25.
- Hassuna NA, Khairalla AS, Farahat EM, Hammad AM, Abdel-Fattah M (2020). Molecular characterization of extended-spectrum beta lactamase- producing *E. coli* recovered from community-acquired urinary tract infections in Upper Egypt. *Sci Rep* 10: 2772.
- Hirsch EF (2008). "The Treatment of Infected Wounds," Alexis Carrel's contribution to the care of wounded soldiers during World War I. *Journal of Trauma-Injury Infection and Critical Care* 64: 209–210.
- Holvoet K, Sampers I, Callens B, Dewulf J, Uyttendaele M (2013). Moderate prevalence of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from lettuce, irrigation water, and soil. *Appl Environ Microbiol* 79: 6677–6683.
- Khorshed AA, Arslan E. 2015. Determination of ESBL production as phenotypic and genotypic in extraintestinal pathogenic *E. coli*. 131 *Turkish Journal of Biochemistry*.
- Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P (2008). Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52: 2818–2824.
- Kizilca O, Siraneci R, Yilmaz A, Hatipoglu N, Ozturk E, Kiyak A, Ozkok D (2012). Risk factors for community-acquired urinary tract infection caused by ESBL-producing bacteria in children. *Pediatrics International* 54: 858–862.
- Krumperman PH (1983). Multiple antibiotic-resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology* 46: 165–170.
- Kudinha T, Johnson JR, Andrew SD, Kong FR, Anderson P, Gilbert GL (2013). *Escherichia coli* sequence type 131 as a prominent cause of antibiotic resistance among urinary *Escherichia coli* isolates from reproductive-age women. *Journal of Clinical Microbiology* 51: 3270–3276.
- Lee DS, Lee SJ, Choe HS (2018). Community-acquired urinary tract infection by *Escherichia coli* in the era of antibiotic resistance. *Biomed Res Int* 7656752.
- Lee SY (1996). High cell-density culture of *Escherichia coli*. *Trends Biotechnol* 14: 98–105.
- Levy SB (2002). The 2000 Garrod lecture. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 49: 25–30.
- Li BY, Webster TJ (2018). Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. *Journal of Orthopaedic Research* 36: 22–32.
- Lu PL, Liu YC, Toh HS, Lee YL, Liu YM, Ho CM, Huang CC, Liu CE, Ko WC, Wang JH (2012). Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009–2010 results

- from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *International Journal of Antimicrobial Agents* 40: 37–43.
- Maslikowska JA, Walker SA, Elligsen M, Mittmann N, Palmay L, Daneman N, Simor A (2016). Impact of infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella* species on outcome and hospitalization costs. *Journal of Hospital Infection* 92: 33–41.
- Moawad AA, Hotzel H, Neubauer H, Ehricht R, Monecke S, Tomaso H, Hafez HM, Roesler U, El-Adawy H (2018). Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae from healthy broilers in Egypt: emergence of colistin-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Gut Pathogens* 10.
- Moore E, Angelika A, Krüger A, Strömpl C, Mau M (2004). Simplified protocols for the preparation of genomic DNA from bacterial cultures. Second edition. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Niranjan V, Malini A (2014). Antimicrobial resistance pattern in *Escherichia coli* causing urinary tract infection among inpatients. *Indian Journal of Medical Research* 139: 945–948.
- OBrien TF (1997). The global epidemic nature of antimicrobial resistance and the need to monitor and manage it locally. *Clinical Infectious Diseases* 24: 2–8.
- Perez F, Bonomo RA (2012). Can we really use ss-Lactam/ss-Lactam inhibitor combinations for the treatment of infections caused by extended-spectrum ss-lactamase-producing bacteria? *Clinical Infectious Diseases* 54: 175–177.
- Rehab MMAA, El-Baghdady KZ, Iman KFK, El-Shishtawy HM (2019). Prevalence of extended spectrum beta-lactamase genes among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Egyptian Journal of Microbiology* 54: 91–101.
- Ruppé E (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi: l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques* 12: 3–16.
- Russo TA, Johnson JR (2003). Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes Infect* 5: 449–456.
- Sana T, Rami K, Racha B, Fouad D, Marcel A, Hassan M, Sani H, Monzer H (2011). Detection of genes TEM, OXA, SHV and CTX-M in 73 clinical isolates of *Escherichia coli* producers of extended spectrum Betalactamases and determination of their susceptibility to antibiotics. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents* 1: 1–6.
- Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SMD, Kamal MA (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22: 90–101.
- Sharma G, Sharma S, Sharma P, Chandola D, Dang S, Gupta S, Gabrani R (2016). *Escherichia coli* biofilm: development and therapeutic strategies. *Journal of Applied Microbiology* 121: 309–319.
- Surgers L, Boyd A, Girard PM, Arlet G, Decre D (2019). Biofilm formation by ESBL-producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Med Microbiol* 309: 13–18.

- Tissera S, Lee SM (2013). Isolation of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing bacteria from urban surface waters in Malaysia. *Malays J Med Sci* 20: 14–22.
- Ugwu M, Shariff M, Nnajide C, Beri K, Okezie U, Iroha I, Esimone C (2020). Phenotypic and molecular characterization of β -Lactamases among enterobacterial uropathogens in Southeastern Nigeria. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 2020: 1–9.
- Uysal A, Durak Y (2012). Pulsed-field gel electrophoresis typing, antibiotic resistance, and plasmid profiles of *Escherichia coli* strains isolated from foods. *Canadian Journal of Microbiology* 58: 1278–1287.
- Uysal A, Gunes E, Arslan E, Durak Y (2018). Characterization of uropathogenic *Escherichia coli* strains: antibiotic resistance patterns, detection of esbl genes and interactions by lytic phages. *Fresenius Environmental Bulletin* 27: 402–414.
- van den Bogaard AE, London N, Driessen C, Stobberingh EE (2001). Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 47: 763–771.
- van Driel AA, Notermans DW, Meima A, Mulder M, Donker GA, Stobberingh EE, Verbon A (2019). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from uncomplicated UTI in general practice patients over a 10-year period. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 38: 2151–2158.
- Vital PG, Zara ES, Paraoan CEM, Dimasupil MAZ, Abello JJM, Santos ITG, Rivera WL (2018). Antibiotic resistance and extended-spectrum beta-lactamase production of *Escherichia coli* Isolated from irrigation waters in selected urban farms in metro manila, Philippines. *Water* 10.
- Yılmaz N, Agus N, Yurtsever SG, Pullukcu H, Gulay Z, Coskuner A, Kose S, Aydemir S, Gulenc N, Ozgenc O (2009). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* in outpatient urinary isolates in Izmir, Turkey. *Medical Science Monitor* 15: 61–65.
- Yılmaz N, Ağuş N, Bayram A, Şamlıoğlu P, Şirin MC, Dericci YK, Hancı SY (2016). Antimicrobial susceptibilities of *Escherichia coli* isolates as agents of community-acquired urinary tract infection (2008–2014). *Turkish Journal of Urology* 42: 32.
- Zamani H, Salehzadeh A (2018). Biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli*: association with adhesion factor genes. *Turkish Journal of Medical Sciences* 48: 162–167.
- Zowawi HM, Harris PNA, Roberts MJ, Tambyah PA, Schembri MA, Pezzani MD, Williamson DA, Paterson DL (2015). The emerging threat of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in urology. *Nature Reviews Urology* 12: 570–584.