

İdrar Kültürlerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Sınıf 1 ve Sınıf 2 İntegron Gen Kasetlerinin Karakterizasyonu: Çok Merkezli Bir Çalışma*

Characterization of Class 1 and Class 2 Integron Gene Cassettes in *Escherichia coli* Strains Isolated From Urine Cultures: A Multicenter Study

Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK¹, Cemal SANDALLI², Emine Esra BUDAK², Gülhan YAĞMUR³, Zeynep ÇİZMECİ⁴, Sibel AK^{5,6}, Pervin Özlem BALCI⁷, Safiye Umut ŞAY COŞKUN⁸, Yasemin AY ALTINTOP⁹, Mehmet FIRAT¹⁰, Fatma SARI¹¹, Ahmet ÇALIŞKAN¹², Nazan YILDIZ¹³, Metin SANCAKTAR¹⁴, Osman Birol ÖZGÜMÜŞ¹

- ¹ Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize.
- ¹ *Recep Tayyip Erdogan University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Rize, Turkey.*
- ² Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Rize.
- ² *Recep Tayyip Erdogan University Faculty of Arts&Sciences, Department of Biology, Rize, Turkey.*
- ³ Kayseri Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kayseri.
- ³ *Kayseri Maternity and Child Health Hospital, Microbiology Laboratory, Kayseri, Turkey.*
- ⁴ Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.
- ⁴ *Bakırköy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey.*
- ⁵ Zirve Üniversitesi EBN Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.
- ⁵ *Zirve University, EBN School of Medicine, Department of Medical Microbiology, Gaziantep, Turkey.*
- ⁶ Malatya Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Malatya.
- ⁶ *Malatya State Hospital, Microbiology Laboratory, Malatya, Turkey.*
- ⁷ Tokat Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Tokat.
- ⁷ *Tokat State Hospital, Microbiology Laboratory, Tokat, Turkey.*
- ⁸ Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tokat.
- ⁸ *Gaziosmanpaşa University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Tokat, Turkey.*
- ⁹ Niğde Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Niğde.
- ⁹ *Nigde State Hospital, Microbiology Laboratory, Nigde, Turkey.*
- ¹⁰ Özel OSM Ortadoğu Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Sanlıurfa.
- ¹⁰ *OSM Ortadoğu Hospital, Infectious Diseases Clinic, Sanliurfa, Turkey.*
- ¹¹ Denizli Servergazi Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Denizli.
- ¹¹ *Denizli Servergazi State Hospital, Microbiology Laboratory, Denizli, Turkey.*
- ¹² Kahramanmaraş Necip Fazıl Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kahramanmaraş.
- ¹² *Kahramanmaraş Necip Fazıl City Hospital, Microbiology Laboratory, Kahramanmaraş, Turkey.*
- ¹³ Konya Beyhekim Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya.
- ¹³ *Konya Beyhekim State Hospital, Microbiology Laboratory, Konya, Turkey.*
- ¹⁴ Trabzon Haçkallı Baba Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon.
- ¹⁴ *Trabzon Hackali Baba State Hospital, Microbiology Laboratory, Trabzon, Turkey*

* Bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Bilimsel Araştırmaları Destekleme Birimi tarafından (RTEÜ, BAP-2012.106.01.11) desteklenmiş ve bir bölümü, 7. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi (5-8 Haziran 2012, Ankara)'nde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 29.09.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 25.03.2016

ÖZ

Escherichia coli hem hastane hem de toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarında en sık izole edilen etkidir. Ülkemizde *E.coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ile ilgili farklı merkezlerde yapılmış çok sayıda çalışma olmakla birlikte, özellikle idrar kültürlerinde üreyen klinik *E.coli* izolatlarında sınıf 1 ve sınıf 2 integron taşıyıcılığıyla ilgili çalışmalar oldukça azdır. Bu çalışmada, idrar örneklerinden izole edilen *E.coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının ve integron gen kasetleri varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Haziran 2011-Haziran 2012 tarihleri arasında, ülkemizin farklı bölgelerindeki 10 ilin (Denizli, Ankara, Kayseri, Niğde, Şanlıurfa, Kahramanmaraş, Tokat, Malatya, Konya ve Trabzon) 10 hastanesinde, mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen idrar örneklerinden izole edilen 626 *E.coli* suşu dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanması ve antibiyogramları konvansiyonel yöntemler, Vitek® 2 Compact (bioMérieux, Fransa) ve BD Phoenix™ 100 (Becton Dickinson, ABD) sistemleriyle yapılmıştır. Standardizasyonun sağlanması amacıyla, tüm izolatların antibiyotik duyarlılığı, çalışmanın yapıldığı merkezde CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle tekrarlanmıştır. Suşlarda integron varlığı, sınıf 1 (*intI1*) ve sınıf 2 (*intI2*) integraz gen bölgeleri için özgül primer çiftleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle araştırılmıştır. İntegron amplifikasyonunun gerçekleştirildiği örnekler klonlanarak DNA dizi analizine tabi tutulmuştur. İzolatların antibiyotik direnç oranları incelendiğinde, en yüksek direncin, ampirik tedavide sık kullanılan ampisilin (ortalama direnç oranı: %58.6; aralık: %43.8-%73.2) ve trimetoprim-sülfametoksazol (SXT) (ortalama direnç oranı: %41.2; aralık: %35.4-%45.8) için saptandığı görülmüştür. İzolatlara karşı en etkin antibiyotiklerin ise imipenem (ortalama direnç oranı: %0.2; aralık: %0-%1.1) ve amikasin (ortalama direnç oranı: %0.6; aralık: %0-%3.2) olduğu belirlenmiştir. İzolatların *intI1* geni pozitiflik oranı %25.8 (162/626), sınıf 1 integron gen kaseti oranı ise %16.6 (104/626) olarak bulunmuş; bu oranlar *intI2* geni ve sınıf 2 gen kaseti için sırasıyla %5.1 (32/626) ve %3 (19/626) olarak saptanmıştır. *IntI1* geni pozitifliği en düşük (%16.6) Kayseri, en yüksek (%35.4) Kahramanmaraş izolatlarında tespit edilmiştir. Denizli ve Kayseri izolatlarında *intI2* geni görülmezken, en yüksek oran %12.1 ile Şanlıurfa izolatlarında belirlenmiştir. İntegron gen kasetleri içerisindeki genler incelendiğinde, en sık bulunan *dfrA1* geni 31 adet sınıf 1 integron gen kasetinde tek başına, 18 adet sınıf 1 integron gen kasetinde *aadA1* ile birlikte tespit edilmiş, sadece bir suшта *aadA1a* ile birlikte bulunmuştur. *dfrA17* alelinin, bir suшта tek başına, 28 suшта *aadA1* ile birlikte ve 15 suшта da *aadA5* ile birlikte olduğu izlenmiştir. *aadA1* ise tek başına dört suшта saptanmıştır. Sınıf 2 integron gen kasetlerinden *dfrA17-sat-aadA5* birlikteliği altı merkeze ait izolatlarda, *dfrA1-sat-aadA1* birlikteliği bir Ankara izolatında ve tek başına *dfrA1* sadece bir Niğde izolatında tespit edilmiştir. Çalışmamızın verileri, idrar kültürlerinden izole edilen *E.coli* suşlarındaki sınıf 1 ve sınıf 2 gen kasetlerinde en sık rastlanan genlerin *dfrA1* ve *aadA1* olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, streptomisin (%31.2) ve SXT'e (%41.2) karşı rastlanan yüksek direnç oranlarının, suşlardaki integron aracılı *dfr*, *sul1* ve *aad* genlerinin yaygınlığını gösterdiği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Escherichia coli*; idrar kültürü; antibiyotik direnci; integron gen kaset; Türkiye

ABSTRACT

Escherichia coli is the most common pathogen isolated from both nosocomial and community acquired urinary tract infections. Although there are many studies from different centers concerning the antibiotic susceptibility of *E.coli* isolates in Turkey, the studies are quite few about class 1 and class 2

integron cassettes in clinical *E.coli* isolates from urinary samples. The aim of the study was to investigate the antibiotic susceptibility and the carriage of integron gene cassettes in *E.coli* strains isolated from urinary samples. A total of 626 *E.coli* strains isolated from urine cultures in microbiology laboratories located at 10 provinces from different regions of Turkey (Denizli, Ankara, Kayseri, Niğde, Şanlıurfa, Kahramanmaraş, Tokat, Malatya, Konya and Trabzon) between June 2011-June 2012 were included in the study. The identification and antibiotic susceptibility testing of the isolates were studied by conventional methods as well as Vitek® 2 Compact (bioMérieux, France) and BD Phoenix™ 100 (Becton Dickinson, USA) systems. The antibiotic susceptibilities of all the isolates were retested by Kirby-Bauer disk diffusion method according to CLSI recommendations in the main center of the study in order to achieve the standardization. The presence of integrons was detected with polymerase chain reaction (PCR) method by using specific primers targeting class 1 (*intI1*) and class 2 (*intI2*) integrase gene regions. After integron amplification the samples were cloned and subjected to DNA sequencing. When the antibiotic susceptibility of the isolates were evaluated, the highest resistance was observed against most commonly used empirical antibiotics namely ampicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT) with the mean rate of 58.6% (range: 43.8%-73.2%) and 41.2% (range: 35.4%-45.8%), respectively. The most effective antibiotics detected against the isolates were imipenem and amikacin with the lowest resistance rates of 0.2% (range: 0%-1.1%) and 0.6% (range: 0%-3.2%), respectively. The frequency of positive *IntI1* gene and class 1 integron gene cassettes were found as 25.8% (162/626) and 16.6% (104/626), respectively, whereas the frequency of positive *intI2* gene II and class 2 integron gene cassettes were 5.1% (32/626) and 3% (19/626), respectively. The lowest *intI1* gene frequency was detected in the isolates from Kayseri (16.6%) and the highest in the isolates from Kahramanmaraş (35.4%) provinces. While there was no *intI2* gene in the isolates from Denizli and Kayseri, the highest frequency was 12.1% in the isolates from Şanlıurfa province. *dfrA1* gene, the most frequent gene among integron gene cassettes was positive in 31 class 1 integron gene cassette alone, and positive with *aadA1* gene in 18 class 1 integron gene cassettes. *dfrA1* gene was positive with *aadA1a* just in one isolate. *dfrA17* allele was positive in one isolate alone, in 28 isolates with *aadA1*, and in 15 isolates with *aadA5*. *aadA1* gene was detected in four isolates. *dfrA17-sat-aadA5* co-existence was detected among class 2 integron gene cassette in isolates from six provinces. *dfrA1-sat-aadA1* was detected in one isolate from Ankara province and *dfrA1* was detected in one isolate in Niğde province only. As a result, *dfrA1* and *aadA1* genes are the most common types of genes among class 1 and class 2 integron gene cassettes in *E.coli* isolated from urine cultures. It was concluded that high resistance against streptomycin (31.2%) and SXT (41.2%) supported the dissemination of integron-mediated genes *dfr*, *sul1* and *aad* in the isolates.

Keywords: *Escherichia coli*; urine culture; antibiotic resistance; integron gene cassette; Turkey.

GİRİŞ

Antibiyotiklerin kontrolsüz ve yanlış kullanımı; direnç oranları, tedavi maliyeti ve tedavi başarısızlığında çok ciddi artışlara neden olmuştur¹⁻³. Özellikle dirençli gram-negatif enterik bakteriler, son yıllarda sadece hastane kaynaklı değil, toplum kaynaklı enfeksiyonlarda da bir sorundur. *Escherichia coli*'nin etken olduğu idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde uzun yıllar ilk tercih edilen antibiyotik gruplarından sülfonamidlere karşı direnç giderek artmaktadır. Mobil genetik yapılardan olan integronlarla taşınan sülfonamid direnç genlerinin (*sul1*, *sul2* ve *sul3*) yayılması, bu genetik kasetlerin toplum ve hastane kaynaklı *E. coli* enfeksiyonlarının epidemiyolojisindeki yerini belirlemeyi zorunlu kılmaktadır⁴. Transpozon ve integronlar, bir DNA molekülünden diğerine, homolog olmayan bölgelere entegre olmak yoluyla translokasyon gösteren DNA elemanlarıdır. İntegronlar antibiyotik direnç determinantlarını kodlayan, belirli gen kasetlerini entegre etme veya

taşıma yeteneğine sahip genetik elemanlardır. Plazmid veya transpozonlar tarafından taşındıklarından dolayı bir bakteriden diğerine, hatta içerisindeki gen kasetleri bir integrondan diğerine geçebilme özelliğine sahiptir. Bu da güçlü bir antibiyotik seçici baskısına, antibiyotik direnç determinantlarının taşınmasına ve yayılımına neden olmaktadır^{4,5}.

Sınıf 1 integronun yapısında bir 5'- ve 3'- korunmuş bölge (5'-CS ve 3'-CS) ve bir de değişken bölge vardır. 5'-CS, *intl* geni (integraz) ve kaset içerisine yerleşen gen(ler)in ekspresyonu için kullanılan bir promoter bölgeden oluşur^{4,5}. 3'-CS ise defektif kuaterner amonyum direnç geni *qacEΔ1* ve sülfonamide direnç sağlayan *sull* geni içerir. İki korunmuş bölge arasında bulunan değişken bölge, antibiyotik direnç gen kasetlerinin girmesi için rekombinasyon yeridir. Bu yüzden rekombinasyon mekanizmasına katılan ve 59 baz çiftli (bç) eleman olarak bilinen *attC* geni içerir. Sınıf 1 integronlar Tn21 gibi transpozonlar üzerinde tespit edilmişlerdir ve prototip sayılırlar. Sınıf 2 integronlar ise Tn7'de bulunmuş olup, dihidrofolat redüktaz gen kaseti içermektedir ve sırasıyla trimetoprim, streptotrisin ve streptomisin/spektinomisine direnç sağlayan *dfrA1*, *sat2* ve *aadA1* gibi üç klasik gen kaseti taşımaktadır. Sınıf 1 ve sınıf 2 integronların, gıdalardan, sulama kanallarından ve nehirlerden izole edilen koliform bakterilerde taşınabildiği rapor edilmiştir⁶.

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardır ve en sık sap-tanan etkenlerden olan *E.coli*'nin antibiyotik direnci ile ilgili çalışmalar hızla artmaktadır^{7,8}. Bu çalışmada, ülkemizin farklı bölgelerindeki 10 ilde, hastanelerin polikliniklerine başvuran hastaların idrar kültürlerinden izole edilen *E. coli* suşlarında antibiyotik direnç paterninin araştırılması ve sınıf 1 ve sınıf 2 integronlar ile integron gen kasetlerindeki genlerin karakterize edilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bakteri İzolatları ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Çalışmaya, Haziran 2011-Haziran 2012 tarihleri arasında 10 ilin (Denizli, Ankara, Kayseri, Niğde, Şanlıurfa, Kahramanmaraş, Tokat, Malatya, Konya ve Trabzon) 10 hastanesinde, mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen idrar örneklerinden izole edilen 626 *E. coli* suşu dahil edildi. Merkezlerde izole edilen suşlar, hastane otomasyon sistemine sistit, idrar yolu enfeksiyonu ve piyelonefrit ön tanısı almış olduğu kaydedilen hastalardan rastgele seçildi.

İzolasyon için klinik örnekler koyun kanlı ve EMB/MacConkey agara ekildi. İzolatların tanımlanması laboratuvarların çalışma koşullarına göre; klasik mikrobiyolojik yöntemlerle ve Vitek-2 Compact (bioMérieux, Fransa) ve BD Phoenix 100 (Becton Dickinson, ABD) gibi otomatize sistemler ile yapıldı. Antimikrobiyal duyarlılık testleri, Vitek-2 Compact ve BD Phoenix 100 sistemleri ile yapılmış olan, her kurumun bildirdiği antibiyogram dışında, standardizasyonu sağlamak amacıyla, tüm izolatların duyarlılığı kendi kurumumuzda CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle tekrarlandı. Suşların; amikasin (AK), gentamisin (GN), siprofloksasin (CİP), ofloksasin (OFX), streptomisin (S), sulbaktam/ampisilin (SAM), kloramfenikol (C), norfloksasin (NOR), nitrofurantoin (NIT), seftriakson (CRO), seftazidim (CAZ), imipenem (İPM), sefuroksim (CFM), sefotaksim

(CXM), sefazolin (KZ), ampicilin (AMP), trimetoprim-sülfametoksazol (SXT) ve aztreonam (ATM) duyarlılığı CLSI standartlarına göre değerlendirildi⁹. Kalite kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı.

DNA İzolasyonu ve İntegrone Özgül Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Bakteriler, %5 koyun kanlı agara ekildi ve tek bir koloni seçilerek 3 ml Luria-Bertani (LB) sıvı besiyerine (%1 tripton, %0.5 maya ekstraktı, %0.5 NaCl, pH: 7.4) pasajlanarak 16 saat 37°C'de çalkalamalı inkübatörde bir gece inkübe edildi. Kalıp DNA izolasyonu için kültürün 1.5 ml'si mikrosantrifüj tüpüne alındı ve 13.000 rpm'de 5 dk çöktürüldü. Santrifüj edilen sıvısının üst kısmı atıldı ve sırasıyla 1 ml Tris- tamponu ve steril distile su ile yıkandı. Son çökelti 500 µl deiyonize suda çözüldü ve 95°C'de 10 dk kaynatılarak hücreler parçalandı. Preparat, 13.000 rpm'de 5 dk santrifüjlenerek çöktürüldü. Sıvının üst kısmında kalan DNA yeni bir ependorf tüpe aktarıldı ve 5 µl'si PCR'de kalıp DNA olarak kullanıldı. *Int1-II* genleri ve integron gen kasetlerinin çoğaltılması için PCR reaksiyonlarında kullanılan tüm primerler Tablo 1'de gösterildi¹⁰⁻¹². Standart PCR karışımları 50 µl son hacim olacak şekilde; 1.5 ünite DNA polimeraz I (*GoTaq*, Promega), 5 µl DNA, 10 µl 5x DNA polimeraz tamponu (Promega), 3 µl MgCl₂ (25 mM), 2.5 µl her bir dNTP (2 mM) ve 2 µl her bir primer (25 pmol/µl) ve son hacim steril deiyonize su ile 50 µl'ye tamamlanarak hazırlandı. Amplifikasyon koşulları; 96°C'de 5 dk, 55°C'de 1 dk, 70°C'de 3 dk (bir döngü); 96°C'de 15 sn, 55°C'de 30 sn, 70°C'de 3 dk (24 döngü) ve son sentez 70°C'de 5 dk olacak şekilde programlandı. Amplifikasyon ürünleri %1.5'lik agaroz jelde yürütüldü ve görüntüldü.

DNA Dizi Analizi

İntegrone amplifikasyonunun gerçekleştirildiği tüm örnekler klonlandı ve DNA dizi analizine tabi tutuldu. Bunun için *E. coli* JM101 kökenine ait kompetan hücreler kalsiyum klorür yöntemiyle hazırlandı. Baz sırasının belirlenmesi için PCR ürünlerinin pGEM-T easy vektörüne (Promega, ABD) ligasyonu sağlandı ve bu amaçla üretici firmaya ait protokol izlendi. Ligasyon ürünleri daha önceden hazırlanan *E. coli* JM101 kompetan hücrelerine transforme edildi. PCR ürününü taşıyan plazmidi içeren hücreler 1 mM IPTG ve X-Gal içeren ampicilinli (50 µg/ml) LB agar petrilere yayılarak ekildi ve mavi-beyaz renk olu-

Tablo 1. PCR yönteminde kullanılan primerler

| Primer | Dizi (5'→3') | Hedef gen bölgesi | Ürün büyüklüğü(bç) | Kaynak |
|---------|-------------------------------|--------------------|--------------------|--------|
| Int1-1F | GGTCAAGGATCTGGATTGG | int1 | 500 | 10 |
| Int1-1R | ACATGCGTGAAATCATCGTC | | | |
| Int1-2F | CACGGATATGCCGACAAAAGGT | int2 | 740 | 10 |
| Int1-2R | GTAGCAAACGAGTGACGAAATG | | | |
| 5' CS | GGCATCCAAGCAGCAAG | İntegrone sınıf I | Değişken | 11 |
| 5' CS | AAGCAGACTTGACCTGA | | | |
| Hep 74 | CGGGATCCCGGACGGCATGCACGATTGTA | İntegrone sınıf II | Değişken | 12 |
| Hep 51 | GATGCCATCGCAAGTACGAG | | | |

şumuna bakılarak hücreler ayrıldı. Her bir petriden bir beyaz koloni seçilerek plazmid izolasyonu yapıldı (Wizard Plus SV Minipreps DNA Purification System, Promega, ABD) ve *EcoRI* restriksiyon endonükleaz enzimiyle kesilerek agaroz jelde yürütüldü. Kontrol olarak PCR ürünü kullanıldı ve PCR ürünü ile aynı parçayı veren plazmidler pozitif olarak kabul edilerek DNA dizi analizi için MacroGen Inc.'e (Amsterdam, Hollanda) gönderildi. pGEM-T üzerinden T7 promotör ve SP6 primerleri kullanılarak klon plazmidlerdeki integron gen kasetlerinin nükleotid dizilimi belirlendi. Biyoinformatik karşılaştırmalar için NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ve Expasy (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) siteleri üzerinden BLAST analizleri gerçekleştirildi. Karşılaştırmalar için aminoasit dizileri kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda, ülkemizin farklı bölgelerinden (İç Anadolu, Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu, Doğu Karadeniz, Orta Karadeniz, Akdeniz ve Ege) ulaşılabilen 10 merkezden elde edilen izolatlarda en yüksek direnç oranı, ortalama %58.6 (aralık: %43.8-%73.2) ile AMP'ye karşı görülmüş, bunu %41.2 oranıyla SXT izlemiştir. Suşların en duyarlı olduğu antibiyotikler ise IPM ve AK olarak tespit edilmiştir (Tablo II).

Çalışılan suşlarda integraz-I geni (*int1*) pozitiflik oranı %25.8 (162/626), sınıf 1 integron (İnt-1) gen kaseti oranı ise %16.6 (104/626) olarak belirlenmiştir. İntegraz-II geni pozitiflik oranı %5.1 (32/626), sınıf 2 (İnt-2) gen kaseti oranı ise %3 (19/626) olarak bulunmuştur. İllerin kendi izolatları içerisindeki oranlarına bakıldığında, en düşük integraz-I

Tablo II. İllere göre *E. coli* izolatlarının antibiyotiklere direnç oranları (%)

| İller (Suş sayısı) | Merkez | Antibiyotik | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | AK | GN | CIP | OFX | S | SAM | C | NOR | NIT | CRO | CAZ | IPM | CXM | CFM | KZ | AMP | SXT | ATM |
| Denizli (44) | SDH | 2.3 | 29.5 | 27.3 | 27.3 | 36.4 | 29.5 | 13.6 | 25 | 4.5 | 13.6 | 2.3 | 0 | 13.6 | 15.9 | 18.2 | 50 | 43.2 | 9.1 |
| K. Maraş (48) | DH | 0 | 25 | 39.6 | 41.7 | 33.3 | 22.9 | 10.4 | 39.6 | 6.3 | 27.1 | 20.8 | 0 | 39.6 | 25 | 29.2 | 72.9 | 41.7 | 27.1 |
| Kaysert (48) | KHDÇH | 0 | 8.3 | 2.1 | 2.1 | 31.3 | 10.4 | 4.2 | 2.1 | 0 | 6.3 | 0 | 0 | 8.3 | 6.3 | 8.3 | 43.8 | 35.4 | 4.2 |
| Şanlıurfa (41) | OOH | 0 | 19.5 | 17.1 | 17.1 | 22 | 26.8 | 2.4 | 19.5 | 0 | 51.2 | 4.9 | 0 | 51.2 | 53.7 | 53.7 | 73.2 | 39 | 26.2 |
| Tokat (94) | DH | 0 | 13.8 | 30.9 | 29.8 | 33 | 19.1 | 20.2 | 29.8 | 1.1 | 19.1 | 4.3 | 1.1 | 22.3 | 19.1 | 23.4 | 54.3 | 36.2 | 12.8 |
| Niğde (49) | DH | 0 | 22.4 | 32.7 | 32.7 | 24.5 | 26.5 | 6.1 | 32.7 | 2 | 24.5 | 18.4 | 0 | 24.5 | 24.5 | 30.6 | 57.1 | 40.8 | 22.4 |
| Malatya (47) | DH | 0 | 18.8 | 14.6 | 14.6 | 22.9 | 20.8 | 4.2 | 12.5 | 0 | 25 | 8.3 | 0 | 29.2 | 22.9 | 27.1 | 56.3 | 45.8 | 14.6 |
| Konya (61) | BDH | 3.2 | 16.1 | 27.4 | 24.2 | 37.1 | 25.8 | 22.6 | 25.8 | 4.8 | 19.4 | 4.8 | 0 | 19.4 | 21 | 19.4 | 54.8 | 45.2 | 9.7 |
| Ankara (85) | KEAH | 1.2 | 21.2 | 31.8 | 31.8 | 35.3 | 48.2 | 8.2 | 31.8 | 0 | 37.6 | 36.5 | 0 | 28.2 | 27.1 | 42.4 | 70.6 | 42.4 | 37.6 |
| Trabzon (109) | FDH | 0 | 10.1 | 19.3 | 21.1 | 28.4 | 18.3 | 11.9 | 20.2 | 3.7 | 13.8 | 4.6 | 0 | 12.8 | 14.7 | 21.1 | 53.2 | 41.3 | 10.1 |
| Toplam (626) | | 0.6 | 17.6 | 25.1 | 25.1 | 31.2 | 25.6 | 11.7 | 24.8 | 2.1 | 23.0 | 11.2 | 0.2 | 23.5 | 23.0 | 27.2 | 58.6 | 41.2 | 17.4 |

AK: Amikasin; GN: Gentamisin; CIP: Siprofloksasin; OFX: Ofloksasin; S: Streptomisin; SAM: Sulbaktam/ampisilin; C: Kloramfenikol; NOR: Norfloksasin; NIT: Nitrofurantoin; CRO: Seftriakson; CAZ: Seftezimidim; IPM: İmipenem; CXM: Sefotaksim; CFM: Sefuroksim; KZ: Sefazolin; AMP: Ampisilin; SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol; ATM: Aztreonam; DH: Devlet Hastanesi; SDH: Servergazi Devlet Hastanesi; KHDÇH: Kadın Hastalıkları Doğum ve Çocuk Hastanesi; OOH: Özel OSM Ortadoğu Hastanesi; BDH: Beyhekim Devlet Hastanesi; KEAH: Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi; FDH: Fatih Devlet Hastanesi.

Tablo III. İntegraz 1 (int1) ve 2 (int2) genleri ile Sınıf 1 (int-1) ve Sınıf 2 (int-2) integron gen kasetlerinin ve taşıyıcıları direnç genlerinin illere göre dağılımı

| İller (Suş sayısı) | Merkez | int1 geni n (%) | int-1 n (%) | Integron gen kaseti (adet) | int2 geni n (%) | int-2 n (%) | Integron gen kaseti |
|---------------------|--------|-------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|-------------------------|
| Denizli (44) | SDH | 14 (31.8) | 6 (13.6) | <i>dfrA1</i> (2), <i>dfrA17-aadA1</i> (4) | 0 | 0 | - |
| K. Maraş (48) | DH | 17 (35.4) | 7 (14.5) | <i>dfrA1</i> (3), <i>aadA1</i> (2), <i>dfrA17-aadA1</i> (2) | 3 (6.2) | 3 (6.2) | <i>dfrA17-sat-aadA5</i> |
| Kayseri (48) | KHDÇH | 8 (16.6) | 5 (10.4) | <i>dfrA1</i> (2), <i>dfrA17-aadA5</i> (2), <i>dfrA12-aadA2</i> | 0 | 0 | - |
| Şanlıurfa (41) | OOH | 12 (29.2) | 8 (19.5) | <i>dfrA1</i> (3), <i>dfrA17-aadA1</i> (5) | 5 (12.1) | 1 (2.4) | <i>dfrA17-sat-aadA5</i> |
| Tokat (94) | DH | 28 (29.7) | 19 (20.2) | <i>dfrA1</i> (6), <i>dfrA17-aadA1</i> (7), <i>dfrA1-aadA1</i> (5), <i>dfrA1-aadA1c</i> (1) | 5 (5.3) | 2 (2.1) | <i>dfrA17-sat-aadA5</i> |
| Niğde (49) | DH | 13 (26.5) | 10 (20.4) | <i>dfrA1</i> (6), <i>dfrA17-aadA5</i> (4) | 2 (4) | 1 (2) | <i>dfrA1</i> |
| Malatya (47) | DH | 12 (25.5) | 6 (12.7) | <i>dfrA17, dfrA17-aadA1</i> (2), <i>dfrA17-aadA5</i> (3) | 3 (6.3) | 3 (6.3) | <i>dfrA17-sat-aadA5</i> |
| Konya (61) | BDH | 15 (24.5) | 11 (18) | <i>dfrA7, dfrA17-aadA5</i> (6), <i>dfrA1-aadA1a</i> (2), <i>dfrA12-aadA2</i> (2) | 4 (6.8) | 2 (3.2) | <i>dfrA17-sat-aadA5</i> |
| Ankara (85) | KEAH | 21 (24.7) | 16 (18.8) | <i>dfrA1</i> (6), <i>aadA1</i> (2), <i>dfrA1-aadA1</i> (5), <i>dfrA17-aadA1</i> (3) | 5 (5.8) | 2 (2.3) | <i>dfrA1-sat-aadA1</i> |
| Trabzon (109) | FDH | 22 (20.1) | 16 (14.6) | <i>dfrA1</i> (3), <i>dfrA1-aadA1</i> (8), <i>dfrA17-aadA1</i> (5) | 5 (4.5) | 5 (4.5) | <i>dfrA17-sat-aadA5</i> |
| Toplam (626) | | 162 (25.9) | 104 (16.6) | | 32 (5.1) | 19 (3) | |

DH: Devlet Hastanesi; SDH: Servergazi Devlet Hastanesi; KHDÇH: Kadın Hastalıkları Doğum ve Çocuk Hastanesi; OOH: Özel OSM Ortadoğu Hastanesi; BDH: Beyhekim Devlet Hastanesi; KEAH: Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi; FDH: Fatih Devlet Hastanesi.

oranı %16.6 ile Kayseri; en yüksek oran ise %35.4 ile Kahramanmaraş izolatlarında izlenmiştir. İntegraz-II sıklığı incelendiğinde, en yüksek oran %12.1 ile Şanlıurfa izolatlarında tespit edilmiş; Denizli ve Kayseri izolatlarında ise integraz II geni saptanmamıştır (Tablo III).

İntegron içerisindeki gen kasetleri dikkate alındığında; *dfrA1* geni, 31 adet int-1 gen kasetinde tek başına, 18 adet int-1 gen kasetinde *aadA1* ile birlikte, sadece bir suşta ise *aadA1a* ile birlikte bulunmuştur. *dfrA17* aleli, bir suşta tek başına, 28 suşta *aadA1* ile birlikte, 15 suşta *aadA5* ile birlikte tespit edilmiş; *aadA1* ise tek başına dört suşta saptanmıştır (Tablo III). int-2 gen kasetlerinden *dfrA17-sat-aadA5* birlikteliği altı merkeze ait izolatlarda, *dfrA1-sat-aadA1* birlikteliği bir Ankara izolatında ve tek başına *dfrA1* sadece bir Niğde izolatında tespit edilmiştir (Tablo III).

TARTIŞMA

Bakteriyel enfeksiyonlar arasında ilk sıralarda yer alan üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), uygun olmayan ve yaygın antibiyotik kullanımı sonucu artan direnç nedeniyle dünya genelinde tedavisi giderek güçleşen ve maliyeti artan enfeksiyonlar haline gelmiştir^{1,2}. ÜSE'de tedaviye sıklıkla ampirik olarak başlandığından, bölgesel etken bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarındaki değişimlerin bilinmesi ve takip edilmesi önem taşımaktadır. Bu konuyla ilgili en kapsamlı çalışma, Aykan ve Çiftçi¹³ tarafından, Türkiye'de 1996-2012 yılları arasında idrar kültürlerinden izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç değişimlerinin meta-analitik olarak değerlendirilmesidir. Uzun dönemde yayınlanan benzer konulu 101 bilimsel çalışmanın verilerine göre, seftriakson, imipenem, gentamisin, amikasin, sefepim ve piperasilin-tazobaktam (TZP) dışındaki antibiyotiklere karşı %20'nin üzerinde di-

reng oranları görülmüştür. Belirlenen dönemler arasında direnç bildirimlerinde nitrofurantoin ve piperasilin için direnç oranlarında belirgin azalma saptanmıştır¹³. Özellikle 2002-2007 ve 2008-2012 yılları arasındaki 11 yıllık iki dönemde görülen siprofloksasin, sefepim, trimetoprim-sülfametoksazol (SXT) direnç oranları ve benzer şekilde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten izolat oranlarındaki belirgin artış dikkat çekici bulunmuştur¹³.

Bizim çalışmamızda, ülkemizin farklı bölgelerinden izole edilen *E.coli* suşlarında en yüksek direnç ampisilin ve SXT'ye karşı saptanmıştır. Ampisilin direncinin Şanlıurfa (%73.2) ve Denizli (%50) izolatlarında oldukça yüksek olduğu dikkati çekmiş, tüm merkezler için ortalama direnç oranı %58.6 olarak belirlenmiştir (Tablo II). Uğur ve arkadaşlarının¹⁴ 2013 yılında yaptığı çalışmada bu oran %71 olarak bildirilmektedir. Bizim bulgularımız, ampisilin direncinin yıllar içinde %70.2'den %62'ye gerilediğini ifade eden meta-analiz çalışması¹³ ile uyumludur. Yurtdışı çalışmalarda da benzer şekilde, %61-100'e varan oranlarda ampisilin direnci rapor edilmiştir¹⁵⁻¹⁷. SXT direncine bakıldığında ise, çalışmamızda en düşük direnç %10.4 ile Kayseri, en yüksek direnç %48.2 ile Ankara izolatlarında izlenmiş, ortalama direnç oranı %25.6 olarak saptanmıştır. Aynı gruptan olan amoksisilin-klavulanik asit (AMC) direnç oranı, meta-analiz çalışmasında %33.4-37.5 arasında tespit edilmiş; poliklinik hastalarında bu oranın %53'e kadar yükseldiği görülmüştür¹³. Aynı çalışmada GSBL pozitif izolatlarda SXT direnci, ayaktan hastalarda %72 olarak verilmektedir¹³. Aykan ve Çiftçi'nin¹³ yapmış olduğu meta-analiz çalışmasında, yıllara göre yapılan değerlendirmenin son 5 yılında SXT direnç oranı %52.3 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da SXT direnci, oranlar birbirine yakın olmakla birlikte, en fazla Malatya suşlarında %45.8 olarak, tüm illerin ortalamasında ise %41.2 olarak saptanmıştır. Bu veriler ülkemiz verileri ile benzer olmakla birlikte, Pakistan'dan bildirilen¹⁵ %88.1 oranına göre oldukça düşüktür.

Çalışmamızda sefalosporinlere direnç oranı, sefriakson ve sefuroksim için %23, sefazolin için %27.2'dir. Bu sonuçlar, ülkemizde yapılan meta-analiz çalışması¹³ ile uyumlu iken, Pakistan'da yapılan çalışmanın¹⁵ oranından (%76.2) oldukça düşüktür. Uğur ve arkadaşlarının¹⁴ çalışmasında ise en yüksek direncin gözlendiği antibiyotikler, ampisilinden sonra sefalotin ve sefuroksim olmuştur. Sefriakson, özellikle yatan hastalarda ampirik tedavide sık kullanılan bir antibiyotiktir. Üropatojen *E.coli* suşlarında sefriaksona karşı, özellikle Şanlıurfa'da %51.2'ye varan direnç oranı gözlenmiştir.

Siprofloksasin ve ofloksasin, ÜSE'nin ampirik tedavisinde ilk seçenek olarak tercih edilen kinolonlardır. Çalışmamızda, tüm merkezlerin ortalama kinolon direnci %25.1 olarak gözlenmiş ve bu oran meta-analiz çalışmasındaki¹³ sonuçlara benzer bulunmuştur. On yedi Avrupa ülkesinden 252 merkezin katıldığı bir çalışmada, siprofloksasin direnci %2.3 olarak verilmiş; bu oranın İspanya ve Portekiz gibi ülkelerde %19.3'e ulaşabildiği belirtilmiştir¹⁶. Pakistan¹⁵, İran¹⁷ ve Japonya¹⁸ gibi ülkelerden ise, bizim sonuçlarımızdan daha yüksek oranlarda (%27-%34.6) kinolon direnci bildirilmektedir. Çalışmamızda, nitrofurantoin direnci ortalama %2.1 oranında (aralık: %0-%6.3) belirlenmiş ve bu antibiyotik için oldukça etkili olduğu görülmüştür (Tablo II). Yapılan çalışmalarda, *E.coli* izolatları

na karşı en etkin antibiyotiklerin imipenem ve amikasin olduğu ifade edilmektedir¹⁴⁻¹⁸. Meta-analiz çalışmasının sonuçlarına göre de, imipeneme direnç en yüksek 1996-2001 yıllarında iken (%4.2), 2008-2012 yıllarında azaldığı (%2.8) belirtilmiş; amikasin direnci ise aynı yıllar için sırasıyla %7 ve %5.8 olarak verilmiştir¹³. Bizim çalışmamızda imipenem ve amikasin direnci sırasıyla, %0.2 ve %0.6 gibi çok daha düşük oranlarda bulunmuştur. Meta-analiz çalışmasında¹³ %17.5 oranında bulunan gentamisin direnci, benzer olarak çalışmamızda da ortalama %17.6 olarak tespit edilmiş; en düşük direnç Trabzon (%10.1), en yüksek direnç ise Denizli (%29.5) izolatlarında gözlenmiştir.

Son zamanlarda dikkat çeken bir konu olarak, antibiyotik direnç genlerinin horizontal transferi, aynı tür içerisinde veya türler arasında olabilmektedir¹⁹⁻²¹. Ülkemizde çevresel kaynaklarda integron taşıyan *Enterobacteriaceae* üyeleri ile ilgili bazı çalışmalar yapılmış olsa da^{6,22,23}, klinik izolatlarda özellikle de idrar örneklerinde yapılan epidemiyolojik araştırmalar sınırlıdır. Bizim çalışmamızda, izolatların %25.9'unun (162/626) *int1* geni ve %5.1'inin (32/626) *int2* geni taşıdığı tespit edilmiştir (Tablo III). Poey ve Lavina'nın²⁴ 230 *E.coli* izolatıyla yaptığı çalışmada, bu çalışmaya benzer oranlarda sınıf 1 (%22) ve sınıf 2 (%8) integron taşıyıcılığı rapor edilmiştir. Ülkemizde yine bu çalışmanın yapıldığı kurumda, klinik *E.coli* izolatları ile yapılan daha önceki bir araştırmada, *int1* gen taşıyıcılığı %30.2 olarak belirlenmiştir²⁵. Sunulan bu çalışmada ise *int1* ve *int2* geni taşıyıcısı *E.coli* suşlarında sırasıyla, en fazla *aadA1* (n= 50) ve *aadA5* geni (n= 6) tespit edilmiştir. *Int1* taşıyıcı suşlarda bunu sırasıyla, *aadA5* (n= 15), *aadA1a* (n= 2) ve *aadA1c* (n= 1) takip etmiştir. *Int2* taşıyıcı *E.coli* suşlarında ise *aadA5* haricinde bir suşta *aadA1* taşıyıcılığı gösterilmiştir. Dihidrofolat redüktaz geni (*dfr*) için sonuçlar değerlendirildiğinde; *int1* pozitif suşlarda en yaygın varyantın *dfrA1* (n= 55) olduğu, bunu sırasıyla *dfrA17* (n= 42), *dfrA7* ve *dfrA12*'nin izlediği saptanmıştır. *Int2* pozitif suşlarda ise sadece *dfrA17* (n= 6) ve *dfrA1* (n= 1) tespit edilmiştir.

Aminoglikozidleri modifiye eden enzimler (AME)'in üretimi, bakterilere antibiyotiklerin amino ve hidroksil fonksiyonlarını değiştirme yeteneği kazandırır. Bu yetenek, bakterilerin aminoglikozidlere direnç göstermesinin en önemli yoludur. AME, aminoglikozid asetil transferaz (AAC), aminoglikozid adenil transferaz (AAD), aminoglikozid fosfotransferaz (APH) ve bu enzimlerin izoenzimlerini kapsar. Tüm bu veriler dikkate alındığında, her iki enzim türünün (hem aminoglikosidazlar hem de dihidrofolat redüktaz) klinik *E.coli* suşları tarafından üretilmesi, aminoglikozid ve trimetoprim direncinin nedeni ve aktarılabilir potansiyelinin integron gen kasetleri aracılığı ile olduğunu göstermektedir. Tüm suşlardaki SXT'ye karşı direnç oranındaki yüksekliğin (%41.2) sebeplerinden birinin, integron gen kasetlerindeki *dfr* ve *sul1* genlerinden kaynaklanabileceği kanısındayız. Aynı zamanda sınıf 1 ve sınıf 2 integronlara sıklıkla entegre olan *aad* genlerine bağlı olarak, streptomisine karşı rastlanan yüksek direnç oranı (%31.2) şaşırtıcı değildir. Sınıf 1 ve sınıf 2 integron taşıyan suşların çoğunun, çoklu antibiyotik direnç profiline sahip olması, buna karşın aynı durumun integron taşımayan suşlarda gözlenmemesi, saptanan çoklu direnç fenotipinde integron gen kasetlerindeki direnç geni taşıyıcılığının önemini ortaya koymuştur.

Literatüre bakıldığında, bu çalışma, ülkemizde idrar örneklerinde üreyen *E.coli* izolatlarında integron gen taşıyıcılığının araştırıldığı en kapsamlı araştırma olup, bu çalışmanın bulguları, klinik *E.coli* suşlarında integronlar tarafından kodlanan antibiyotik direnç genlerinin varlığı ve yayılımının anlaşılmasını kolaylaştıracaktır. Ayrıca integronlar ve integronlar ile ilgili direnç fenotiplerinin çalışılması, toplum kaynaklı enfeksiyonlardaki klinik izolatlarda çoklu antibiyotik direnç genlerinin kazanılması mekanizmaları hakkında önemli bilgiler sağlayacaktır. Tüm bu bilgiler göz önüne alındığında, kontrolsüz geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının, direnç gelişimi ve artışının başlıca nedeni olabileceği öne sürülebilir. Ayrıca direnç oranlarının yüksek olması, tedavide yeni alternatiflere veya eskiden yoğun olarak kullanılan ancak son yıllarda kullanımı azalmış olan antibiyotiklere yönelime yol açmaktadır. Her hastane ve bölgede direnç oranları saptanarak, hem klinik etkinlik hem de maliyet etkinliği açısından ampirik tedavide kullanılacak antibiyotiklerin belirlenmesi gerekmektedir. Antibiyotik direnci ile integron ilişkisinin epidemiyolojik verilerle birlikte daha iyi irdelenmesi için kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Allerberger F, Gareis R, Jindrák V, Struelens MJ. Antibiotic stewardship implementation in the EU: the way forward. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009; 7(10): 1175-83.
2. Drew RH. Antimicrobial stewardship programs: how to start and steer a successful program. *J Manag Care Pharm* 2009; 15(2 Suppl): 18-23.
3. Llor C, Bjerrum L. Background for different use of antibiotics in different countries. *Clin Infect Dis* 2005; 40(2): 333.
4. Deng Y, Bao X, Ji L, et al. Resistance integrons: class 1, 2 and 3 integrons. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2015; 14: 45.
5. Bennett PM. Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43(1): 1-4.
6. Çolakoğlu F, Özgümüş OB, Sandallı C, Çelik-Sevim E, Alpay-Karaoğlu Ş. Deniz suyu kökenli koliformlarda sınıf 1 ve sınıf 2 integron gen kasetleri ve antibiyotik direncinin karakterizasyonu. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2010; 40(2): 97-108.
7. Solberg OD, Ajiboye RM, Riley LW. Origin of class 1 and 2 integrons and gene cassettes in a population-based sample of uropathogenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2006; 44(4): 1347-51.
8. Nicolle LE. Urinary tract infection: traditional pharmacologic therapies. *Dis Mon* 2003; 49(2): 111-28.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 22nd Informational Supplement, M100-S22, 2012. CLSI, Wayne, PA.
10. Lim KT, Yasin R, Yeo CC, Puthuchery S, Thong KL. Characterization of multidrug resistant ESBL-producing *Escherichia coli* isolates from hospitals in Malaysia. *J Biomed Biotechnol* 2009; 2009: 165637.
11. Lévesque C, Piche L, Larose C, Roy PH. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(1): 185-91.
12. White PA, McIver CJ, Rawlinson WD. Integrons and gene cassettes in the enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(9): 2658-61.
13. Aykan SB, Ciftçi IH. Antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* strains isolated from urine cultures in Turkey: a meta-analysis. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(4): 603-61.

14. Uğur AR, Türk Dağı H, Tuncer İ, Fındık D, Arslan U. idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılığı ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranı. ANKEM Derg 2013; 27(1): 13-8.
15. Muhammad I, Uzma M, Yasmin B, Mehmood Q, Habib B. Prevalence of antimicrobial resistance and integrons in *Escherichia coli* from Punjab, Pakistan. Braz J Microbiol 2011; 42(2): 462-6.
16. Kahlmeter G; ECO.SENS. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. J Antimicrob Chemother 2003; 51(1): 69-76.
17. Saffar MJ, Enayti AA, Abdolla IA, Razai MS, Saffar H. Antibacterial susceptibility of uropathogens in 3 hospitals, Sari, Islamic Republic of Iran, 2002-2003. East Mediterr Health J 2008; 14(3): 556-63.
18. Shigemura K, Arakawa S, Miura T, Nakano Y, Tanaka K, Fujisawa M. Significance of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in urinary tract infections. Jpn J Infect Dis 2008; 61(3): 226-8.
19. Huddleston JR. Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. Infect Drug Resist 2014; 7: 167-76.
20. Leverstein-van Hall MA, Box AT, Blok HE, Paaauw A, Fluit AC, Verhoef J. Evidence of extensive interspecies transfer of integron-mediated antimicrobial resistance genes among multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* in a clinical setting. J Infect Dis 2002; 186(1): 49-56.
21. Krauland MG, Marsh JW, Paterson DL, Harrison LH. Integron-mediated multidrug resistance in a global collection of nontyphoidal *Salmonella enterica* isolates. Emerg Infect Dis 2009; 15(3): 388-96.
22. Ozgumus OB, Celik-Sevim E, Alpay-Karaoglu S, Sandalli C, Sevim A. Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* strains isolated from tap and spring waters in a coastal region in Turkey. J Microbiol 2007; 45(5): 379-87.
23. Ozgumus OB, Sandalli C, Sevim A, Celik-Sevim E, Sivri N. Class 1 and class 2 integrons and plasmid-mediated antibiotic resistance in coliforms isolated from ten rivers in northern Turkey. J Microbiol 2009; 47(1): 19-27.
24. Poey ME, Lavina M. Integrons in uropathogenic *Escherichia coli* and their relationship with phylogeny and virulence. Microb Pathog 2014; 77: 73-7.
25. Copur-Cicek A, Ozgumus OB, Saral A, Sandalli C. Antimicrobial resistance patterns and integron carriage of *Escherichia coli* isolates causing community-acquired infections in Turkey. Ann Lab Med 2014; 34(2): 139-44.