

# İdrar ve İdrar Dışı Klinik Örneklerden İzole Edilen GSBL Üreten *Escherichia coli* İzolatlarında Yüksek Riskli ST131 Klonunun MALDI-TOF MS ve Gerçek Zamanlı PCR ile Araştırılması\*

## Investigation of High-Risk ST131 Clone in ESBL-Producing *Escherichia coli* Isolates Isolated from Urine and Non-urinary Clinical Specimens with MALDI-TOF MS and Real Time PCR

Zeynep ÇİZMECİ<sup>1</sup>, Barış OTLU<sup>2</sup>, Elif AKTAŞ<sup>3</sup>, Seyhan ÖRDEKÇİ<sup>1</sup>, Özlem AÇIKGÖZ<sup>1</sup>,  
Nuray GÜLEÇ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

<sup>1</sup> University of Health Sciences Bakirkoy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital, Clinical Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup> İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya.

<sup>2</sup> Inonu University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Malatya, Turkey.

<sup>3</sup> Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

<sup>3</sup> University of Health Sciences Sisli Hamidiye Etfal Training and Research Hospital, Clinical Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey.

\* Bu çalışma, 32. Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği (ANKEM) Kongresi (10-14 Mayıs 2017)'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 23.10.2017 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 20.01.2018

### ÖZ

Son yıllarda multilokus sekans tiplendirme (MLST) yöntemine dayalı çalışmalar, *Escherichia coli* izolatları arasında yüksek riskli pandemik bir klon olarak tanımlanan ST131 klonunun genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) (sıklıkla CTX-M-15) üretimi ile başta florokinolonlar olmak üzere çeşitli antibiyotiklere karşı görülen direnç arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada; bölgemizde enfeksiyon etkeni olarak izole edilmiş GSBL üreten *E.coli* izolatlarında, yüksek riskli ST131 klonu görülme sıklığının saptanması, ST131 klonunun tespitinde MALDI-TOF MS sisteminin duyarlılığının araştırılması, ST131 klonuna ait

**İletişim (Correspondence):** Uzm. Dr. Zeynep Çizmecı, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Bakırköy, İstanbul, Türkiye.

**Tel (Phone):** +90 212 41 47171, **E-posta (E-mail):** czizmecici@yahoo.com

olan ve olmayan izolatların antimikrobiallere karşı direnç varlığının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Şubat 2016-Şubat 2017 tarihleri arasında hastanemizin merkez laboratuvarında izole edilmiş GSBL üreten 251 idrar ve 50 idrar dışı klinik örnekten elde edilen *E.coli* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. *E.coli* ST131 klonunun tespiti için "real-time (gerçek zamanlı)" polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ve MALDI-TOF MS yöntemi kullanılmıştır. ST131 klonuna ait olan ve olmayan *E.coli* izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç oranlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanılmıştır.  $p < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. GSBL üreten 301 *E.coli* izolatının 110 (%36.6)'u PCR ve 92 (%30.6)'si MALDI-TOF MS ile ST131 klonu olarak tespit edilmiştir. Gerçek zamanlı PCR sonuçlarına göre, 251 idrar izolatının 91 (%36.3)'i ve 50 idrar dışı izolatın 19 (%38)'u ST131 klonu olarak saptanmış, aralarında ST131 varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ( $p > 0.05$ ). Siprofloksasin direnci, ST131 izolatlarında ST131 klonu olmayan izolatlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (%78.2,  $n = 86$ ; %53.4,  $n = 86$ ). Çalışmamızda test edilen diğer antibiyotikler için saptanan direnç düzeyleri ile ST131 varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. ST131 klonunun tespiti için MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığı %84, özgüllüğü %100, pozitif tahmin değeri %100, negatif tahmin değeri %92 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak; GSBL görülme sıklığının ve özellikle kinolon grubu olmak üzere antibiyotiklere direnç oranlarının oldukça yüksek olduğu ülkemizde yüksek riskli *E.coli* ST131 klonunun daha fazla araştırılması, antibiyotik direncinin kontrolünde yeni stratejilerin geliştirilmesi için önemlidir. MALDI-TOF MS ise özellikle yüksek riskli *E.coli* ST131 klonunun hızlı ve kolay bir şekilde tespit edilmesinde oldukça yararlı bir yöntem olarak gözükmektedir.

**Anahtar sözcükler:** *Escherichia coli* ST131; yüksek riskli klon; GSBL; MALDI-TOF MS; real-time PCR.

## ABSTRACT

In recent years, the ST131 clone was identified as a high risk pandemic clone among *Escherichia coli* isolates by multilocus sequence typing (MLST) studies and has been associated with extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production (often with CTX-M-15) and antibiotic resistance especially against fluoroquinolones. The aim of this study was to determine the rate of high risk ST131 clone in ESBL producing *E.coli* isolates in our region, to investigate the sensitivity of MALDI-TOF MS in the detection of ST131 clone, and to compare the frequency of antimicrobial resistance among ST131 and non-ST131 isolates. A total of 251 urinary and 50 non-urinary *E.coli* isolates identified in our hospital central laboratory between February 2016-February 2017 were included in the study. Real-time PCR and MALDI-TOF MS methods were used for the detection of *E.coli* ST131 clone. For the statistical evaluation of the rate of antibiotic resistance among isolates of ST131 and non-ST131 clones, chi-square test was used.  $p$  value under 0.05 was considered as significant. Of the 301 isolates, 110 (36.6%) and 92 (30.6%) isolates were identified as ST131 clone by real-time PCR and MALDI-TOF MS, respectively. According to real-time PCR results, 91 (36.3%) of 251 urinary isolates and 19 (38%) of 50 non-urinary isolates were found as ST131 clone; there was no statistically significant difference between the groups. Ciprofloxacin resistance was found to be significantly higher in ST131 isolates than the non-ST131 isolates (78.2%,  $n = 86$  vs. 53.4%,  $n = 102$ ). No statistically significant difference was determined for the other antibiotics tested. For the detection of *E.coli* ST131 clone; sensitivity of MALDI-TOF MS was 84%, specificity was 100% while positive predictive value was 100% and negative predictive value was 92%. In conclusion, further investigation of the high risk *E.coli* ST131 clone in our country, in which ESBL ratios and antibiotic resistance rates, especially in fluoroquinolones, are high, is important for the development of new strategies to control antibiotic resistance. MALDI-TOF MS method is particularly useful for easy and fast detection of the high risk *E.coli* ST131 clone.

**Keywords:** *Escherichia coli* ST131; high risk clone; ESBL; MALDI-TOF MS; real-time PCR.

## GİRİŞ

Çok ilaca dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi en yaygın direnç mekanizmalarından biridir<sup>1</sup>. Özellikle CTX-M tipi GSBL'lerin *Escherichia coli* izolatları arasında hızlı ve küresel yayılımı, antibiyotiklere karşı giderek artan direnç oranlarının yanında idrar yolu ve bakteriyemi de dahil olmak üzere hem toplumsal hem de hastane kaynaklı enfeksiyonların gelişmesinde önemli rol oynamaktadır<sup>2,3</sup>.

Global antibiyotik direnç surveyansının ve bu dirence neden olan bakteriyel klonların belirlenmesinde, çeşitli korunmuş yapısal genlerin DNA dizilerindeki varyasyonlarına dayanan sekans bazlı multilokus dizi tiplendirme (MLST) yöntemi, çok sayıda bakteriyel izolat arasındaki filogenetik ilişkinin belirlenmesinde altın standart yöntem olarak bilinmektedir<sup>2</sup>. MLST yöntemi kullanılarak yapılan moleküler epidemiyolojik çalışmalar ile çeşitli genetik direnç elemanlarının aktarılmasıyla çok ilaca direncin oldukça başarılı yayılımına neden olduğu bilinen belirli bakteriyel klonlar "yüksek riskli klon" olarak tanımlanmıştır<sup>4</sup>.

Son yıllarda, tüm dünyada antibiyotik direncinin yayılımında "yüksek riskli pandemik bir klon" olarak tanımlanan *E.coli* ST131 global surveyans çalışmaları için önemli bir hedef haline gelmiştir<sup>2-7</sup>. Yapılan çalışmalarda ST131 klonunun, çoğunlukla CTX-M olmak üzere GSBL üretimi yanı sıra özellikle kinolon direnci olmak üzere çok ilaca direnç ve takiben tedaviye yanıtızlık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>2,4,5</sup>.

ST131 klonunun surveyansında, uygulaması zor ve pahalı bir yöntem olan MLST yerine, laboratuvarlarda kullanılabilecek daha basit ve uygun maliyetli yöntemler araştırılmaktadır. Bu amaçla, günümüzde alel-spesifik PCR<sup>8,9</sup> yöntemi yanında sınırlı sayıda olmakla birlikte, basit ve hızlı sonuç alınabilen MALDI-TOF MS sisteminin kullanıldığı yeni çalışmalar da bildirilmektedir<sup>10-12</sup>.

Ampirik antibiyotik tedavisinde florokinolon grubu antibiyotiklerin sıklıkla kullanıldığı ülkemizde, *E.coli* izolatları arasında yıllar içerisinde giderek artan yüksek GSBL ve antibiyotik direnç oranları bildirilmektedir<sup>13-15</sup>. Yapılan çalışmalarda GSBL üreten *E.coli* izolatlarının sıklıkla CTX-M tipi enzim ile ilişkili olduğu<sup>16-18</sup>, siprofloksasin dirençli *E.coli* izolatlarında ise özellikle CTX-M olmak üzere GSBL üretiminin daha sık görüldüğü bildirilirken<sup>19</sup>, ST131 klonunun surveyansı ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır<sup>12,20-22</sup>.

Çalışmamızda; laboratuvarımızda izole edilen GSBL üreten *E.coli* izolatlarında, yüksek riskli ST131 klonunun varlığının ve görülme sıklığının saptanması, ST131 klonunun tespitinde MALDI-TOF MS sisteminin duyarlılığının araştırılması, ST131 klonuna ait olan ve olmayan izolatlarda antibiyotik direnç oranlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Şubat 2016-Şubat 2017 tarihleri arasında Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında izole edilen GSBL üreten 251'i idrar, 50'si idrar dışı olmak üzere 301 *E.coli* izolatı dahil edildi. Elli izolatın 26'sı apse, 15'i kan, 3'ü periton, 2'si trakeal aspirat ve 4'ü ise diğer örneklerden elde edildi. Aynı has-

talardan elde edilen tekrarlayan izolatlar çalışma dışı bırakıldı. Bakterilerin tanımlanmasında, konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra BD Phoenix™ otomatik AST sistemi (Becton Dickinson, ABD) kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testi, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) kriterleri kullanılarak BD Phoenix™ otomatik AST sistemi (Becton Dickinson, ABD) veya Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. GSBL varlığını göstermek için çift disk sinerji yöntemi kullanıldı<sup>23</sup>. İzolatlar moleküler testler uygulanana kadar -80°C'de, %10'luk skim-milk besiyerinde saklandı.

ST131 klonunun tespiti için Tchesnokova ve arkadaşları<sup>9</sup> tarafından tanımlanan "real-time (gerçek zamanlı)" PCR yöntemi, prob tespiti yerine erime eğrisi analizinin yapıldığı bir modifikasyonla<sup>12</sup> RotorGene Q cihazı (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi. ST131 klonunun MALDI-TOF MS ile tespiti ise Lafolie ve arkadaşları<sup>11</sup> tarafından daha önce tanımlanan protokole göre Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi. MALDI-TOF MS analizinde, formik asit ekstraksiyonu sonrası Microflex LT (Bruker Daltonics, Almanya) platformu kullanıldı. Her örneğe ait sonuç üç kez tekrarlandı. Kütle spektrumu analizi, 2.000 ila 20.000 Da kütle aralığında 60 Hz'lik bir lazer frekansında doğrusal pozitif iyon modunda çalışan flexControl 3.4 yazılım platformu kullanılarak elde edildi. ST131 ve ST131 dışındaki izolatları ayıran pikler, oluşan spesifik spektrumların görsel olarak karşılaştırılması ile tanımlandı. ST131 tespiti için, izolatların kütle spektrumları belirlenerek, daha önce tanımlanmış yaklaşık 9.713 ve 10.474 m/z'de oluşan ayırt edici pikler araştırıldı.

### İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 15.0 programı kullanıldı. ST131 klonuna ait olan ve olmayan izolatların antibiyotik direnç oranları arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

GSBL üreten 301 *E.coli* izolatının 96 (%31.9)'sı erkek, 205 (%68.1)'i kadın hastalardan izole edilmiştir. Hastaların 54'ü 0-5 yaş, 42'si 6-15 yaş, 16'sı 16-29 yaş, 95'i 30-59 yaş, 94'ü ise  $> 60$  yaş arasında olup, izolatların 208 (%69)'i polikliniklerde ve 93 (%31)'ü servislerde takip edilen hastaların örneklerinden izole edilmiştir. Üç yüz bir *E.coli* izolatının 110 (%36.6)'u PCR, 92 (%30.6)'sı MALDI-TOF MS ile ST131 klonu olarak tespit edilmiştir. PCR yöntemi ile karşılaştırıldığında, MALDI-TOF MS'nin duyarlılığı %84, özgüllüğü %100, pozitif tahmin değeri %100, negatif tahmin değeri %92 bulunmuştur (Tablo I). Gerçek zamanlı PCR sonuçlarına göre GSBL üreten 251 üriner izolatın 91 (%36.3)'i ve 50 idrar dışı izolatın 19 (%38)'u ST131 olarak bulunmuş olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Antibiyotik duyarlılık testlerinde izolatların hiçbirinde karbapenemlere (ertapenem, imipenem ve meropenem) karşı direnç saptanmamıştır. Karbapenem grubu antibiyotiklerin

**Tablo I. ST131 Klonunun Araştırılmasında MALDI-TOF MS ve Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları**

|                    |         | PCR ST131 |         |        |
|--------------------|---------|-----------|---------|--------|
|                    |         | Pozitif   | Negatif | Toplam |
| MALDI-TOF MS ST131 | Pozitif | 92        | 0       | 92     |
|                    | Negatif | 18        | 191     | 209    |
|                    | Toplam  | 110       | 191     | 301    |

dışında en düşük direnç oranı amikasin (%1.3, n= 4) için, idrar izolatlarında ise amikasinden sonra fosfomisin (%5.6, n= 14) için saptanmıştır. Diğer antibiyotiklere karşı saptanan direnç oranları değişmekle birlikte sırasıyla nitrofurantoin %7.6, gentamisin %36.5, siprofloksasine %62.5 ve trimetoprim/sülfametoksazole ise %69.4 olarak tespit edilmiştir. Siprofloksasin direnci, ST131 klonu olmayan izolatlarda %53.4 (n= 102) olarak bulunurken, ST131 izolatları arasında %78.2 (n= 86) oranında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş olup ( $p < 0.01$ ), diğer antibiyotiklere direnç oranları ile ST131 varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo II).

## TARTIŞMA

*E.coli* izolatlarında, sefalosporin ve florokinolon grubu antibiyotiklerin ampirik tedavide sıklıkla kullanılmasıyla birlikte giderek artan düzeyde GSBL üretimi bildirilmektedir<sup>3</sup>. Bu artışa paralel olarak ilk kez 2008 yılında yüksek riskli pandemik bir klon olarak tanımlanan *E.coli* ST131, tüm dünyada aynı dönemde yaygın olarak bildirilmeye başlanmıştır<sup>2-7</sup>. Günümüzde *E.coli* izolatları arasında global antibiyotik direncinin hızla artmasında ve yayılımında rol oynayan ST131 klonunun en önemli insan patojenlerinden biri olduğu bildirilmektedir<sup>2</sup>. Bu nedenle yüksek risk taşıyan bu klonun sürveyansı, antibiyotik direncinin anlaşılması, enfeksiyon kontrolü ve önlenmesinde gerekli stratejilerin oluşturulabilmesi için global sürveyans çalışmalarında temel hedef haline gelmiştir<sup>3</sup>.

Ülkemizde *E.coli* izolatları arasında, tüm yaş gruplarında GSBL üretimi yanında ampirik antibiyotik tedavisinde sıklıkla tercih edilen kinolonlar başta olmak üzere antimikrobiyalere yıllar içinde giderek artan direnç oranları bildirilmektedir<sup>13,14,24</sup>. Yapılan ulusal bir sürveyans çalışmasında, *E.coli* izolatlarında bölgelere göre değişmekle birlikte siprofloksasin direncinin %31.4-75, GSBL üretiminin %20-77.1 arasında değiştiği ve GSBL üreten *E.coli* izolatlarında siprofloksasin direncinin daha yüksek (%84.2) olduğu bildirilmiştir<sup>15</sup>.

ST131 klonunun sıklıkla CTX-M grubu GSBL ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda, GSBL üreten *E.coli* izolatlarında yüksek düzeyde CTX-M beta-laktamaz genlerinin varlığı gösterilmiştir<sup>16-18</sup>. İstanbul'da 2010 yılında yapılan bir çalışmada, *E.coli* izolatlarında florokinolon direncinin %65 olduğu, toplum kökenli izolatların %10.6'sının GSBL ürettiği ve bunların %92.5'inin CTX-M olduğu, hastane kökenli izolatların ise %13.8'inin GSBL ürettiği ve bunların ise %95.7'sinin CTX-M tipi olduğu gösterilmiştir<sup>16</sup>.

| Tablo II. STI 31 Klonu Olan ve Olmayan E.coli İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları |      |                   |      |       |               |      |       |                |      |       |                |      |       |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------|-------------------|------|-------|---------------|------|-------|----------------|------|-------|----------------|------|-------|
|                                                                                        |      | Siprofloksasin    |      |       | TMP-SMZ*      |      |       | Gentamisin     |      |       | Fosfomisin     |      |       |
|                                                                                        |      | R                 | S    | Total | R             | S    | Total | R              | S    | Total | R              | S    | Total |
| ST131                                                                                  | Sayı | 86                | 24   | 110   | 75            | 35   | 110   | 44             | 66   | 110   | 6              | 85   | 91    |
|                                                                                        | %    | 78.2              | 21.8 | 100   | 68.2          | 31.8 | 100   | 40             | 60   | 100   | 6.6            | 93.4 | 100   |
| PCR                                                                                    | Sayı | 102               | 89   | 191   | 134           | 57   | 191   | 66             | 125  | 191   | 8              | 152  | 160   |
|                                                                                        | %    | 53.4              | 46.6 | 100   | 70.2          | 29.8 | 100   | 34.6           | 65.4 | 100   | 5              | 95   | 100   |
| Total                                                                                  | Sayı | 188               | 113  | 301   | 209           | 92   | 301   | 110            | 191  | 301   | 14             | 237  | 251   |
|                                                                                        | %    | 62.5              | 37.5 | 100   | 69.4          | 30.6 | 100   | 36.5           | 63.5 | 100   | 5.6            | 94.4 | 100   |
| p değeri                                                                               |      | 0.000019 (p<0.01) |      |       | 0.72 (p>0.05) |      |       | 0.344 (p>0.05) |      |       | 0.227 (p>0.05) |      |       |
| TMP-SMZ: Trimetoprim-sülfametoksazol.                                                  |      |                   |      |       |               |      |       |                |      |       |                |      |       |

İstanbul'da 2015 yılında yapılan diğer bir çalışmada ise; GSBL üreten *E.coli* izolatlarında CTX-M enzimi üretimi %89.5, siprofloksasin direnci %41 oranında bildirilmiştir<sup>17</sup>. Ülkemizde GSBL üreten *E.coli* izolatları arasında bildirilen yüksek CTX-M tipi enzim oranları ve florokinolon direncine rağmen, ST131 klonunun varlığı, oranları ve yaygınlığı hakkında az sayıda araştırma bulunmaktadır<sup>12,20-22</sup>.

*E.coli* ST131 prevalansı, coğrafi bölge ve popülasyonlara göre değişiklik göstermekle birlikte<sup>2,5</sup>, klinik örneklerden izole edilen izolatların %12.5-30'unun, GSBL üreten izolatların yaklaşık yarısının, florokinolona dirençli izolatların ise yaklaşık %80'inin ST131 klonu olduğu saptanmıştır<sup>5</sup>. Türkiye'de ilk kez 2008 yılında, İzmir'de Yumuk ve arkadaşlarının<sup>20</sup> yaptığı çalışmada GSBL üreten 17 *E.coli* izolatından birinin ST131 klonu olduğu bildirilmiştir. Daha sonra Ankara'da 2011 yılında Can ve arkadaşları<sup>21</sup>, 294 üriner sistemden elde edilen *E.coli* izolatının %24'ünün GSBL ürettiğini ve izolatların %12'sinin ST131 klonu olduğunu bildirmişlerdir. Aynı yıl, çok ilaca dirençli 107 üriner *E.coli* izolatının dahil edildiği diğer çalışmalarında ise; GSBL üretimi ve ST131 oranı sırasıyla %55.1 ve %31 olarak bulunmuştur<sup>22</sup>. İstanbul'da ilk kez 2017 yılında, Aktaş ve arkadaşları GSBL üreten 203 üriner sistemden elde edilen *E.coli* izolatının %39.9'unun ST131 klonu olduğunu ve bu izolatlarda siprofloksasin direncinin anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmişlerdir<sup>12</sup>. İstanbul'un en büyük hastanelerinden birinde, bir yıl içinde çok sayıda GSBL üreten izolatın dahil edildiği çalışmamızda ST131 klonu, izolatların %36.6'sı gibi oldukça yüksek düzeyde bulunmuştur.

ST131 klonunun tüm dünyada yayılımı ile, bu klonun hem toplumsal hem de hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının yanı sıra bakteriyemi de dahil olmak üzere çeşitli enfeksiyonlara yol açtığı bilinmektedir<sup>2,3</sup>. İdrar dışı çeşitli klinik örneklerden elde edilen 87 *E.coli* izolatı ile yapılan bir çalışmada, izolatların 35'inin ST131 olduğu ve çoğunluğunun çok ilaca dirençli olduğu gösterilmiştir<sup>25</sup>. Can ve arkadaşlarının<sup>26</sup> 2016 yılında bakteriyemi etkeni olarak tespit edilen 297 *E.coli* izolatını kapsayan çalışmalarında, izolatların %16'sının ST131 klonuna ait olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, izolatların yaklaşık yarısının GSBL ürettiği ve GSBL üreten izolatlarda ST131 klonunun %31 gibi yüksek oranda olduğu saptanmıştır<sup>26</sup>. Çalışmamızda idrar dışı enfeksiyon etkeni olarak, 26'sı apse, 15'i kan, 3'ü periton, 2'si trakeal aspirat ve 4'ü ise diğer klinik örneklerinden izole edilen GSBL üreten 50 *E.coli* izolatının 19 (%38)'ünün ST131 klonuna ait oldukları tespit edilmiştir.

Özellikle florokinolon direnci ile ilişkilendirilen ST131 klonunun, *E.coli* izolatlarında antibiyotik direncinin yayılımına önemli ölçüde katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda ST131 izolatları arasında siprofloksasin direnci, ST131 dışındaki izolatlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Çok ilaca dirençli gram-negatif bakterilerin oluşturduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde son basamak ilaç olan karbapenemlere karşı direnç, ST131 klonunda ilk kez, 2012 yılında Bonnin ve arkadaşları<sup>27</sup> tarafından bir ST131 *E.coli* izolatının NDM-1 karbapenemaz ürettiği gösterilerek bildirilmiştir. Yakın zamanda yapılan global surveyans çalışma-

sında karbapenemaz üreten *E.coli* izolatlarının %35'inin ST131 klonu olduğu gösterilmiştir<sup>28</sup>. Çalışmamızda, *E.coli* izolatlarında karbapenemaz üretimi saptanmamıştır. Karbapenemaz üreten *E.coli* izolatları bölgemizde yaygın olmamasına rağmen, yakın zamanda yapmış olduğumuz çalışmada<sup>29</sup> ülkemiz geneli ile uyumlu olarak, *Klebsiella* spp. izolatlarında özellikle NDM-1 tipi karbapenemazların yaygınlaşmaya başlaması endişe vericidir. Bu durum, bölgemizde, direnç yayılımı ve aktarımında oldukça baskın olan ST131 klonunun varlığının yanı sıra yeni antibiyotik direnç paterni özellikle karbapenemaz genlerinin varlığının saptanmasını oldukça önemli kılmaktadır.

ST131 klonunun yayılımına paralel olarak, özellikle oral antibiyotik tedavisi gerektiren üriner sistem *E.coli* enfeksiyonlarının tedavisi ve yönetimi oldukça karmaşık hale gelmektedir. Yapılan çalışmalarda, *E.coli* ST131'e bağlı üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif seçenek olan fosfomisin oldukça etkili olduğu bildirilmektedir<sup>30</sup>. Çalışmamızda GSBL üreten idrar *E.coli* izolatlarında %94.4, ST131 klonuna ait izolatlarda %93.4 olmak üzere yüksek düzeyde fosfomisin duyarlılığı saptanmıştır. *E.coli* izolatlarının ST131 klonu olup olmadığının hızlı ve maliyet-etkin testlerle belirlenebilmesi de, uygun ampirik antibiyotik seçiminde yol gösterici olmaktadır. Çalışmamızda sonuç verme süresi, erime eğrisi analizi modifikasyonu yapılarak uygulanan gerçek zamanlı PCR yöntemi ile ST131 klonunun saptanması iki saate indirilmiş ve MALDI-TOF MS yöntemiyle de bakteri tür tanımlanması kısa sürede yapılabilmektedir.

Çalışma kapsamındaki izolatların çoğunun (%69) poliklinik hastalarından izole edilmesi bölgemizdeki toplum kökenli enfeksiyonlarda ST131 klonu görülme sıklığı hakkında fikir vermesine rağmen, yalnızca GSBL üreten izolatlarda ve retrospektif olması, toplum veya hastane kaynaklı enfeksiyon ayrımının net yapılamaması çalışmanın kısıtlılıkları olarak görülebilmektedir. Ancak elde edilen sonuçlar, bölgemizdeki idrar ve idrar dışı *E.coli* enfeksiyonlarında ST131 klonunun görülme sıklığı hakkında önemli bir ön veri oluşturmaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda idrar ve idrar dışı klinik örneklerden izole edilen GSBL üreten *E.coli* izolatları arasında ST131 klonunun yüksek sıklıkta olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde bu yüksek riskli pandemik klonun daha fazla araştırılması, yayılımının önlenmesi, yeni direnç genleri kazanıp kazanmadığının tespiti, etkili ampirik antibiyotik tedavi seçeneklerinin belirlenmesi ve antibiyotik direncinin kontrolünde yeni stratejilerin geliştirilmesi için gereklidir. Yakın zamanda karbapenemaz üretiminin bildirilmesiyle birlikte, çok ilaca direnç ve bu direncin global yayılımı açısından, en önemli halk sağlığı tehdidi haline gelen *E.coli* ST131 varlığını hızlı, maliyet-etkin saptayabilecek yöntemlerin geliştirilmesi; hedefe yönelik etkili tedavinin uygulanabilmesi, yanı sıra ST131 rezervuarlarının saptanması, risk faktörleri ve direnç aktarım yollarının anlaşılabilmesi için oldukça önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 18(4): 667-86.
2. Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. *Escherichia coli* ST131: The quintessential example of an international multiresistant high risk clone. Adv Appl Microbiol 2015; 90: 109-54.
3. Nicholas-Chanoine MH, Bertrand X, Madec JY. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. Clin Microbiol Rev 2014; 27(3): 543-74.
4. Woodford N, Turtton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev 2011; 35(5): 736-55.
5. Banerjee R, Johnson JR. A new clone sweeps clean: the enigmatic emergence of *Escherichia coli* sequence type 131. Antimicrob Agents Chemother 2014; 58(9): 4997-5004.
6. Coque TM, Novais A, Carattoli A, et al. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. Emerg Infect Dis 2008; 14(2): 195-200.
7. Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. J Antimicrob Chemother 2011; 66(1): 1-14.
8. Clermont O, Dhanji H, Upton M, et al. Rapid detection of the O25b-ST131 clone of *Escherichia coli* encompassing the CTX-M-15 producing strains. J Antimicrob Chemother 2009; 64(2): 274-7.
9. Tchesnokova VL, Ottley LL, Sakamoto K, Fierer J, Sokurenko E, Liss MA. Rapid identification of rectal multidrug resistant *Escherichia coli* before transrectal prostate biopsy. Urology 2015; 86(6): 1200-5.
10. Novais A, Sousa C, de Dios Caballero J, et al. MALDI-TOF mass spectrometry as a tool for the discrimination of high-risk *Escherichia coli* clones from phylogenetic groups B2 (ST131) and D (ST69, ST405, ST393). Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2014; 33(8): 1391-9.
11. Lafolie J, Sauget M, Cabrolier N, Hocquet D, Bertrand X. Detection of *Escherichia coli* sequence type 131 by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: implications for infection control policies? J Hosp Infect 2015; 90(3): 208-12.
12. Aktaş E, Otlu B, Erdemir D, Ekici H, Bulut E. A first insight into *Escherichia coli* ST131 high-risk clone among extended-spectrum beta-lactamase-producing urine isolates in Istanbul with the use of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry and real-time PCR. Microb Drug Resist 2017; 23(8): 1032-6.
13. Aykan SB, Ciftci IH. Antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* strains isolated from urine cultures in Turkey: a meta-analysis. Mikrobiyol Bul 2013; 47(4): 603-18.
14. Taşbakan MI, Pullukçu H, Sipahi OR, Yamazhan T, Arda B, Ulusoy S. A pooled analysis of the resistance patterns of *Escherichia coli* strains isolated from urine cultures in Turkey: a comparison of the periods 1997-2001 and 2002-2007. Turk J Med Sci 2011; 41(3): 557-64.
15. Gur D, Hascelik G, Aydin ND, et al. Antimicrobial resistance in gram negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. J Chemother 2009; 21(4): 383-9.
16. Bayraktar B, Toksoy B, Bulut E. Detection of bla(CTX-M) beta-lactamase genes in extended-spectrum beta-lactamase producing gram-negative bacteria. Mikrobiyol Bul 2010; 44(2): 187-96.
17. Görgeç S, Kuzucu Ç, Otlu B, Yetkin F, Ersoy Y. Investigation of beta-lactamase genes and clonal relationship among the extended-spectrum beta-lactamase producing nosocomial *Escherichia coli* isolates. Mikrobiyol Bul 2015; 49(1): 15-25.
18. Çopur Çiçek A, Saral A, Duzgun AO, et al. Nationwide study of *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey. J Antibiot 2013; 66: 647-50.
19. Azap OK, Arslan H, Serefhanoglu K, et al. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase positivity in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections. Clin Microbiol Infect 2010; 16(2): 147-51.
20. Yumuk Z, Afacan G, Nicolas-Chanoine MH, Sotto A, Lavigne JP. Turkey: a further country concerned by community-acquired *Escherichia coli* clone O25-ST131 producing CTX-M-15. J Antimicrob Chemother 2008; 62(2): 284-8.

21. Can F, Azap OK, Seref C, İspir P, Arslan H, Ergonul O. Emerging *Escherichia coli* O25b/ST131 clone predicts treatment failure in urinary tract infections. Clin Infect Dis 2015; 60(4): 523-7.
22. Can F, Kurt-Azap Ö, İspir P, et al. The clinical impact of ST131 H30-Rx subclone in urinary tract infections due to multidrug resistant *Escherichia coli*. J Glob Antimicrob Resist 2016; 4: 49-52.
23. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-fifth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S25.
24. Koçak M, Büyükkaragöz B, Çelebi Tayfur A, et al. Causative pathogens and antibiotic resistance in children hospitalized for urinary tract infection. Pediatr Int 2016; 58(6): 467-71.
25. Usein CR, Condei M, Cristea D, et al. *Escherichia coli* ST131 causing invasive infections in Romanian patients-a threat we can no longer ignore. Roum Arch Microbiol Immunol 2014; 73(1-2): 5-8.
26. Can F, Kurt-Azap O, Nurtop E, İspir P, Seref C, Ergonul O. Molecular epidemiology of bloodstream associated *Escherichia coli* ST131 H30-Rx subclone infection in a region with high quinolone resistance. J Med Microbiol 2016; 65: 306-10.
27. Bonnin RA, Poirel L, Carattoli A, Nordmann P. Characterization of an IncFII plasmid encoding NDM-1 from *Escherichia coli* ST131. PLoS One 2012; 7(4): e34752.
28. Peirano G, Bradford PA, Kazmierczak KM, et al. Global incidence of carbapenemase-producing *Escherichia coli* ST131. Emerg Infect Dis 2014; 20(11): 1928-31.
29. Cizmeci Z, Aktas E, Otlu B, Acikgoz O, Ordekci S. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* yields increasing rates of NDM-1 carbapenemases and colistin resistance in an OXA-48-endemic area. J Chemother 2017;29(6):344-50.
30. Johnson JR, Drawz SM, Porter S, Kuskowski MA. Susceptibility to alternative oral antimicrobial agents in relation to sequence type ST131 status and coresistance phenotype among recent *Escherichia coli* isolates from U.S. veterans. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(10): 4856-60.