



Üriner Sistem Enfeksiyonlu Bireylerden İzole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında CTX-M, TEM ve SHV Tipi Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Aktivitesinin Otomatize Sistem ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Investigation of CTX-M, TEM and SHV Type Extended Spectrum Beta-Lactamase Activity with Automated System and Molecular Methods in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Strains Isolated from Individuals with Urinary Track Infections

Sibel Deniz¹, Fatih Büyük², Kenan Murat³

¹T.C. Sağlık Bakanlığı Kars İl Sağlık Müdürlüğü Kars Verem Savaş Dispanseri; ²Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı; ³T.C. Sağlık Bakanlığı Kars İl Sağlık Müdürlüğü, Kars Harakani Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü, Kars, Türkiye

ABSTRACT

Aim: This study aimed to investigate ESBL positivity among *E.coli* and *K.pneumoniae* strains isolated from urine samples belonging to individuals who applied to Kars Harakani State Hospital with urinary tract complaints by automated identification system and molecular methods.

Material and Method: 5000 urine samples obtained between April and August 2019 were included. The samples were cultured on Mac Conkey and 7% sheep blood agar, identification was done by ID panel of BD Phoenix™ 100 and antibiotic susceptibility and ESBL activities were determined by AST panel. CTX-M, TEM and SHV genes were analyzed by PCR.

Results: 19.5% aerobic bacteria culture positivity was obtained from the urine samples and 120 (13.33%) of them were found to have ESBL activity. 102 (85%) of the isolates were identified as *E.coli* and 14 (11.67%) as *K.pneumoniae*. The ESBL positivity was obtained 2.4% for total urine samples, and 2.04% and 0.28% for *E.coli* and *K.pneumoniae*, respectively. While the total resistance to beta-lactam antibiotics was 57.46%, the most common resistance was observed against cephalosporins (92.53%) and the most common sensitivity (47.19%) was to carbapenems. At least one or more resistance genes were detected in 90.52% of ESBL positive isolates by PCR and CTX-M was the most common resistance gene. While there was no statistically significant relationship between ESBL positivity and age groups, however, a positive relationship was found between ESBL and gender of the patients at a rate of 21.9%.

Conclusion: In addition to eliminating risk factors in reducing the incidence of ESBL-related infections, identification of microorganism, disclosure of relevant ESBL profiles and the right antibiotic preference to be developed according to these emerged models are important. It is hoped that this systematic study carried out in a limited location in Kars region of Turkey will benefit in this context.

Key words: human; urine; ESBL; culture; Phoenix; PCR; *E.coli*; *K.pneumoniae*

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Kars Harakani Devlet Hastanesi'ne idrar yolları yakınması ile başvuran bireylere ait idrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşları arasında GSBL pozitifliğinin otomatize identifikasyon sistemi ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmaya, Nisan-Ağustos 2019 tarihleri arasında örneklenen 5000 idrar örneği dâhil edildi. Örnekler, Mac Conkey ve %7 koyun kanlı agarda kültüre edildikten sonra elde edilen izolatların identifikasyonu BD Phoenix™ 100 ID paneli, antibiyotik duyarlılıkları ve GSBL aktiviteleri ise AST paneli ile belirlendi. İzolatların CTX-M, TEM ve SHV genleri PCR ile analiz edildi.

Bulgular: İdrar örneklerinden %19,5 oranında aerobik bakteriyel etken kültür pozitifliği elde edildi ve bunların 120 (%13,33)'sinin GSBL aktivitesi olduğu saptandı. GSBL pozitif izolatların 102 (%85)'si *E.coli* ve 14 (%11,67)'ü *K.pneumoniae* olarak tanımlandı. GSBL pozitifliği toplamda idrar örneklerinde %2,4, *E.coli* ve *K.pneumoniae* için ise sırasıyla %2,04 ve %0,28 olarak belirlendi. İzolatların, beta laktam grubu antibiyotiklere toplam direnci %57,46 belirlenirken, en yaygın dirençlilik sefalosporinlere (%92,53) ve en yaygın duyarlılık ise karbapenemlere (%47,19) karşı saptandı. PCR ile GSBL pozitif izolatların %90,52'sinde en az bir veya birden fazla direnç geni saptandı ve en yaygın saptanan direnç geni CTX-M idi. GSBL pozitifliği ile yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamazken, hastaların cinsiyetleri arasında %21,9 oranında pozitif yönde bir ilişki saptandı.

Sonuç: GSBL kaynaklı enfeksiyonların insidansının azaltılmasında risk faktörlerinin ortadan kaldırılmasının yanı sıra enfeksiyöz etkenlerin identifikasyonu, ilgili GSBL profillerinin çıkarılması ve bu modellerine göre geliştirilecek doğru antibiyotik tercihi oldukça önemlidir. Sınırlı bir lokasyonda, Kars yöresinde, yapılan bu sistematik çalışmanın bu yönde fayda sağlayacağı umulmaktadır.

Anahtar kelimeler: insan; idrar; GSBL; kültür; Phoenix; PCR; *E.coli*; *K.pneumoniae*

İletişim/Contact: Fatih Büyük, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye • **Tel:** 0544 376 09 07 • **E-mail:** fatibbyk08@gmail.com • **Geliş/Received:** 13.10.2020 • **Kabul/Accepted:** 26.03.2021

ORCID: Sibel Deniz, 0000-0001-7248-6642 • Fatih Büyük, 0000-0003-3278-4834 • Kenan Murat, 0000-0001-9654-2311

Giriş

Antibiyotiklere karşı direnç, son yıllara giderek artan ve tüm dünyayı tehdit eden önemli bir klinik problemdir. Direnç geliştiren bakteriler arasında, beta-laktamaz enzim üreterek beta-laktam antibiyotikleri hidrolize eden ve inaktif hale getiren başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türü bulunmaktadır. Günümüzde 350'ye yakın betalaktamaz enzimi tanımlanmış olup bunların büyük bir çoğunluğunu (yaklaşık 150'sini) Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL) (Extended-Spectrum Beta-Lactamases, ESBL) oluşturmaktadır^{1,2}. GSBL'ler, genellikle ekstrasomozomal yapılar tarafından kodlandıkları için bakteriler arası kolaylıkla aktarılır ve böylece yaygınlıkları artar. GSBL'ler, yaygın olarak *Enterobacteriaceae* bakteri ailesinin üyeleri, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* tarafından sentezlenirler. *E.coli* ve *K.pneumoniae* idrar yolu enfeksiyonları ve buna bağlı gelişen bakteriyemilerin yaygın etkenleri arasındadır. Ayrıca bu iki bakteri türü sıklıkla nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumlu olan bakteri türleridir^{3,4}.

Klinik sahada GSBL'den kaynaklanan hastalıkların sağaltımında penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdir. Bu antibiyotiklere direnç sayesinde bu bakterilerden kaynaklanan hastane enfeksiyonu sıklığını artırmakta ve genellikle çoklu ilaç direncine sahip olduklarından tedavide güçlüklerle yol açmaktadırlar. GSBL kaynaklı enfeksiyon riski, insanların hastanede ve yoğun bakım ünitelerinde uzun süre kalması, idrar ve venöz kateter gibi çeşitli girişimler uygulamalar ve geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin gelişigüzel kullanımı gibi faktörlerle de artmaktadır⁵.

Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazların teşhisinde, farklı sefalosporinleri hidrolize etme yeteneğine sahip GSBL enzimlerini belirleyen fenotipik yöntemler ile GSBL enzimlerini kodlayan genlerin belirleyen moleküler yöntemler kullanılır. Fenotipik yöntemlerden disk difüzyon tekniği GSBL pozitifliğini tarama testi olarak, çift disk sinerji testi, otomatize mikrobiyoloji sistemleri ve E-test metodu ise doğrulama testleri olarak kullanılır. Moleküler teknikler ise hem GSBL üretiminden sorumlu olan spesifik genin analizini sağlarken hem de fenotipik yöntemlerin saptayamadığı düşük seviyeli antibiyotik direncini saptar. Bu amaçla GSBL enzimlerini kodlayan CTX-M, TEM, SHV ve varyantlarına ait genler spesifik oligonükleotid primerler eşliğinde *in vitro* amplifiye edilerek PCR aracılığıyla kolaylıkla saptanabilmektedir^{6,7}.

Escherichia coli ve *K.pneumoniae* gibi GSBL üreten etkenler insanlarda ciddi enfeksiyonlara yol açmakta ve bu etkenler birçok antimikrobiyal maddeye çoklu direnç göstermektedirler. Özellikle etken identifikasyonu ve antimikrobiyal duyarlılık belirlenmeden yapılan ampirik tedavi girişimleri çoklu dirence sahip GSBL'lerin ortaya çıkmasının temel nedenidir. Yine de bu tür etkenlerden kaynaklanan enfeksiyonların sağaltımında aminoglikozidler, kinolonlar, tigesilinler ve fosfomisinler gibi antimikrobiyallere başvurulabilir^{8,9}.

Bu çalışmada, Kars Harakani Devlet Hastanesi'ne idrar yolları yakınması ile başvuran bireylere ait idrar örneklerinden izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşları arasında GSBL pozitifliğinin otomatize sistem ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma İzni ve Çalışma Materyali

Etik kurul izni, Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 30.10.2019 tarih ve 26 nolu kararıyla ve kurum izni ise Kars İl Sağlık Müdürlüğü'nün 29.11.2019 tarihli oluru ile alınmıştır.

Kesitsel bir çalışma şeklinde yürütülen bu çalışmada çalışma materyalini, Nisan-Ağustos 2019 tarihleri arasında Kars Harakani Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümüne idrar yolları yakınması ile gelen ve mikrobiyolojik inceleme amaçlı başvuran 0 ile 70 yaş arası bireylere ait idrar numuneleri oluşturdu. Bu kapsamda hastaneye başvuran bireylere ait 5.000 adet idrar örneği çalışmaya dahil edildi.

BD Phoenix™ 100 Sistemi ile Analiz

Steril tüplere yaklaşık 10–20 ml orta idrar alındıktan sonra idrar örnekleri, 3000 devirde 10 dk. santrifüj edildi. Sedimentten 1 µl alınarak Mac Conkey (Thermo Fisher Sci., ABD) ve %7 koyun kanlı agara (Thermo Fisher Sci., ABD) ekimler yapıldı. Ekilen besiyerleri aerobik şartlarda ve 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Saf koloni varlığı ile kültür pozitif olarak nitelendirilen örnekler Mac Conkey besiyerinde laktoz aktivitesi ve Gram boyanma özellikleri değerlendirildi¹⁰. Laktoz pozitif Gram negatif bakterilerin identifikasyonu BD Phoenix™ 100 sisteminin (Becton, Dickinson and Company, ABD) ID paneli (Gram negatif idrar paneli) ile gerçekleştirildi. İdentifiye edilen bakterilerin antimikrobiyal madde duyarlılıkları ve GSBL aktiviteleri AST paneli ile belirlendi.

Moleküler Analiz

İzolatların GSBL direnç gen (CTX-M, TEM ve SHV) analizleri PCR yöntemleri ile gerçekleştirildi. Bu amaçla bakteriyel total DNA tek koloni lizis buffer (SCLB) eşliğinde ısıl işlem aracılığıyla ekstrakte edildi¹¹. CTX-M'in araştırılmasında

CTX-M-F: 5'-TTTGGCGATGTGCAGTACCAGTAA-3'
ve

CTX-M-R: 5'-CGATATCGTTGGTGGTGCCATA-3'¹²,
TEM'in araştırılmasında

blaTEM-F: 5'-ATGAGTATTCAACATTTCCGTG-3'
ve

blaTEM-R: 5'-TTACCAATGCTTAATCAGTGAG-3'¹³
ve

SHV'nin araştırılmasında

blaSHV-F: 5'-TTATCTCCCTGTTAGCCACC-3'
ve

blaSHV-R: 5'-GATTTGCTGATTTTCGCTCGG-3'¹⁴

primer çiftleri kullanıldı. Single-step PCR şeklinde gerçekleştirilen analizlerde üniform reaksiyon bileşenleri kullanıldı. Reaksiyon 25 µl hacimde ve 2,5 µl PCR buffer (x10), 0,5 µl dNTP miks (10 mm), 1 µl Primer F (10 pmol), 1 µl Primer R (10 pmol), 0,4 µl Taq polimeraz, 13,6 µl H₂O ve 3 µl DNA bileşenlerinden oluşturuldu. Termal döngü; 94°C'de 5 dk ilk denatürasyon, takiben 94°C'de 1 dk denatürasyon, 57°C'de 1 dk primer bağlanması ve 72°C'de 1 dk zincir uzaması şeklinde 35 siklus ve 72°C'de 10 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Elektroforezde 544 bp boyutundaki amplifiye ürünler CTX-M, 861 bp ürünler TEM ve 795 bp ürünleri SHV geni olarak yorumlandı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistic 22.0 paket programı ile gerçekleştirildi. Bu kapsamda parametrik olmayan test yöntemlerine başvuruldu. Bu amaçla nominal (sınıflayıcı) ölçeğe sahip iki değişkenin veri analizinde Pearson, Fisher ve Yates Ki kare testleri uygulandı. Üç değişkenin veri analizinde Cochran-Mantel-Haenszel testi uygulandı. Küçük örnek hacmine sahip verilerin analizlerde Likelihood Ratio (G²) istatistiği tercih edildi. İki kategorik değişken arasındaki ilişkinin yönü ve gücü Fi (Phi-) katsayısı ile belirlendi. Ordinal (sıralayıcı) ölçeğe sahip verilerin analizinde ise Mann-Whitney-Wilcoxon testi kullanıldı^{15,16}.

Bulgular

İdrar örneklerinden yapılan izolasyon çalışmaları sonucu %19,5 (n: 975) kültür pozitifliği (aerob bakteri) elde

edildi. Bunların %92,3 (n: 900)'ü laktoz pozitif Gram negatif bakteriler olarak saptandı ve bu bakterilerin %13,33 (n: 120)'ünün Phoenix AST paneli ile GSBL pozitif olduğu belirlendi. GSBL pozitifliği, kültür pozitif aerob bakteriler içerisinde %12,31 oranında ve incelenen tüm idrar örnekleri içerisinde %2,4 oranında saptandı. Phoenix ID paneli ile GSBL pozitif 120 bakterinin 102 (%85)'si *Escherichia coli*, 14 (%11,66)'ü *Klebsiella pneumoniae* ve 4 (%3,33)'ü *Enterobacter cloacae* olarak tanımlandı. İncelenen tüm idrar örnekleri içerisinde GSBL pozitif *E.coli* oranı %2,04 ve GSBL pozitif *K.pneumoniae* oranı %0,28 olarak belirlendi.

Çalışmada GSBL pozitif saptanan 116 izolatın (102 *E.coli* ve 14 *K.pneumoniae*) izole edildiği hastaların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 1'de özetlendi. Hastaların 67 (%57,8)'sini kadınlar ve 49 (%42,2)'unu erkekler oluşturmaktaydı. *E.coli* izole edilen hastaların 63 (%61,76)'ü kadın ve 39 (%38,24)'ü erkek, *K.pneumoniae* izole edilen hastaların ise 4 (%28,57)'ü kadın ve 10 (%71,43)'ü erkekti. Bu veriler eşliğinde tanımlanan bakteri türleri ile hastaların cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak %21,9 oranında pozitif yönde bir ilişki saptandı (Yates ki kare test istatistiği anlamlılık düzeyi 0,039 ve Fi katsayısı anlamlılık düzeyi 0,018) (Tablo 1). Çalışmadaki hastaların yaş gruplandırması, Birleşmiş Milletler (UN)'in yaş skalası esas alınarak yapıldı¹⁷. Bu skalaya göre örnek yetersizliğinden dolayı 0-14 ile 15-24 yaş aralığındaki bireyler "24 ve altı" kategorisinde toplandı. Buna göre, hastaların 41 (%35,3)'i 24 yaş ve altı, 20 (%17,2)'si 25 ile 44 yaş aralığında, 18 (%15,5)'i 45 ve 64 yaş aralığında ve 37 (%31,9)'si ise 65 yaş ve üzeri grupta yer almaktaydı. İdentifiye edilen bakteriler ile yaş dağılımı ise Tablo 1'de yer almaktadır. Bu verilere göre tanımlanan bakteri türü ile hastaların yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (Mann-Whitney U istatistiği 605,5 ve anlamlılık düzeyi 0,337). Fakat bu üç değişken birlikte incelendiğinde 25-44 yaş grubundaki hastalarda tanımlanan bakteri türü ile cinsiyet arasında %66,7 oranında pozitif yönde bir ilişki saptandı (Cochran ve Mantel-Haenszel testleri anlamlılık değerleri sırasıyla 0,006 ve 0,017, Fi katsayısı güven düzeyi 0,003).

Çalışmada tanımlanan 102 *E.coli* ve 14 *K.pneumoniae* izolatının antimikrobiyal duyarlılıkları Phoenix AST paneli ile belirlendi. Bu kapsamda tüm izolatların Ampisilin, Seftriakson, İmipenem, Meropenem ve Piperasilin/Tazobaktam duyarlılıkları, 115 izolatın (101 *E.coli* ve 14 *K.pneumoniae*) Seftazidim, 114 izolatın (100 *E. coli* ve 14 *K.pneumoniae*) Ertapenem, 88

Tablo 1. Phoenix ID ile tanımlanan GSBL pozitif bakteriler ile demografik özellikler arasındaki ilişki

| Yaş | Cinsiyet | Bakteri türü | | | Yates Ki Kare Test / Mann-Whitney- Wilcoxon Test Sig. değerleri | Cochran's/Mantel- Haenszel Sig. değerleri * | Fi Katsayısı / yaklaşık Sig. değerleri |
|-------------|----------|--------------|--------------|--------|--|--|---|
| | | E.coli | K.pneumoniae | Toplam | | | |
| 24 ve altı | Kadın | 23 | 1 | 24 | 0,337 | 0,006/0,017 | 0,144/0,357 |
| | Erkek | 15 | 2 | 17 | | | |
| | Toplam | 38 | 3 | 41 | | | |
| 25-44 | Kadın | 16 | 2 | 18 | 0,337 | 0,006/0,017 | 0,667/0,003 |
| | Erkek | 0 | 2 | 2 | | | |
| | Toplam | 16 | 4 | 20 | | | |
| 45-64 | Kadın | 11 | 0 | 11 | 0,337 | 0,006/0,017 | 0,304/0,197 |
| | Erkek | 6 | 1 | 7 | | | |
| | Toplam | 17 | 1 | 18 | | | |
| 65 ve üzeri | Kadın | 13 | 1 | 14 | 0,337 | 0,006/0,017 | 0,192/0,243 |
| | Erkek | 18 | 5 | 23 | | | |
| | Toplam | 31 | 6 | 37 | | | |
| Toplam | Kadın | 63 | 4 | 67 | 0,039 | 0,039 | 0,219/0,018 |
| | Erkek | 39 | 10 | 49 | | | |
| | Toplam | 102 | 14 | 116 | | | |

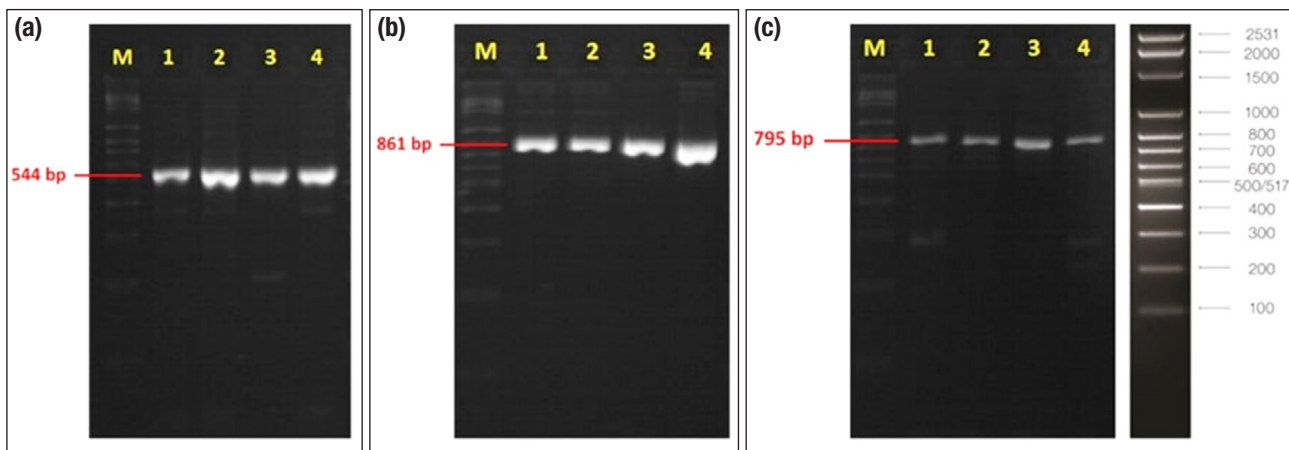
* Odds oranlarının homojenliği Breslow-Day ve Tarone's testleri (anlamlılık değeri sırasıyla 0,414 ve 0,436) ile saptandı.

izolatın (74 *E. coli* ve 14 *K. pneumoniae*) Sefiksim, 84 izolatın (71 *E. coli* ve 13 *K. pneumoniae*) Amoksisilin-Klavulanat, 29 izolatın (24 *E. coli* ve 5 *K. pneumoniae*) Aztreonam ve 29 izolatın (24 *E. coli* ve 5 *K. pneumoniae*) Sefepim aktiviteleri belirlendi. Aztreonam hariç izolatların tümünün test edildiği en az bir Beta-laktam antibiyotik grubu bulunmaktaydı. GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %57,46 olarak saptandı. İzolatların en dirençli olduğu antibiyotik grubu sefalosporinler (%92,53) ve en duyarlı olduğu antibiyotik grubu karbapenemler (%47,1) olup, direnç bakımından izolatlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,329$). *E. coli* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %55,97 saptandı ve izolatların en (%92,49) dirençli olduğu antibiyotik grubu penisilinler, en (%92,43) duyarlı olduğu antibiyotik grubu ise karbapenemler olarak belirlendi. *E. coli* izolatlarının en yaygın dirençlilik gösterdiği antibiyotik türü %100 ile Ampisilin ve Sefiksim olurken, en duyarlı olduğu antibiyotik türü ise %99,02 ile Imipenemdir. *K. pneumoniae* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %67,41 saptandı ve izolatların en (%100) dirençli olduğu antibiyotik grubu monobaktamlar, en (%85,71) duyarlı olduğu antibiyotik grubu ise

karbapenemler olarak belirlendi. *K. pneumoniae* izolatlarının en yaygın (%100) dirençlilik gösterdiği antibiyotik türü Ampisilin, Aztreonam, Sefiksim, Sefepim ve Seftriakson olurken, en (%92,86) duyarlı olduğu antibiyotik türü Imipenem ve Meropenemdir. *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının beta laktam grubu antibiyotiklere olan duyarlılık/dirençlilik farklılıkları istatistiksel olarak oldukça anlamlı ($p<0,00001$) saptandı.

Çalışmada tanımlanan 116 izolatın PCR ile 105 (%90,52)'inde bir veya birden fazla direnç geni saptanırken, 11 (%9,48)'i negatif bulundu (Şekil 1). Bu bağlamda PCR'nin sensitivitesi %90,52 olarak belirlenirken, spesifitesi hesaplanmadı. En yaygın direnç geni 91 (%78,45) izolatla (82 *E. coli* ve 9 *K. pneumoniae*) saptanan CTX-M olup, bunu 70 (%60,34) izolat (63 *E. coli* ve 7 *K. pneumoniae*) ile SHV ve 57 (%49,14) izolat (51 *E. coli* ve 6 *K. pneumoniae*) ile TEM izledi. Bireysel, ikili ve üçlü GSBL direnç genlerinin saptandığı izolat sayısı Tablo 2'de verilmiştir.

Phoenix AST ve PCR bulguları karşılaştırıldığında; yalnız CTX-M, yalnız TEM ve yalnız SHV geni saptanan izolatların en dirençli olduğu antibiyotik grubu penisilinler ve sefalosporinler olurken, bu izolatlar karbapenem grubu antibiyotiklere genelde duyarlı ve Beta-laktam/Beta-laktam inhibitörü antibiyotiğe (Piperasilin/



Şekil 1. a–c. PCR'lere ait elektroforetik analiz görüntüsü: CTX-M-PCR (a), TEM-PCR (b), SHV-PCR (c). M: DNA Ladder (Hyperladder 100 bp plus/Bioline), 1–4: *E. coli* ve *K.pneumoniae* izolatları.

Tazobaktam) reaksiyonu ise değişkenlik göstermektedir. Yalnız SHV pozitif 1 izolatta ise sefalosporin duyarlılığı ve yalnızca penisilin direnci belirlendi. Benzer durum CTX-M ve TEM, CTX-M ve SHV ve TEM ve SHV direnç genlerinin eş zamanlı saptandığı izolatlar için geçerlidir. Sınırlı sayıdaki monobaktam grubu antibiyotiğe (Aztreonam) ise izolatların reaksiyonu değişkenlik gösterdi. CTX-M, TEM ve SHV direnç genlerinin eş zamanlı saptandığı izolatların en dirençli olduğu antibiyotik grubu penisilinler ve sefalosporinler olurken, bu izolatlar karbapenem ve Beta-laktam/Beta-laktam inhibitörüne (Piperasilin/Tazobaktam) antibiyotiğe genelde duyarlı ve sınırlı sayıdaki monobaktam grubu antibiyotiğe (Aztreonam) ise tümü dirençli saptandı. CTX-M, TEM ve SHV direnç genlerinin negatif saptandığı

izolatların (7 *E.coli* ve 4 *K.pneumoniae*) en dirençli olduğu antibiyotik grubu yine penisilinler ve sefalosporinler olurken, bu izolatların karbapenemler ve Beta-laktam/Beta-laktam inhibitörü antibiyotiğe duyarlılıkları değişkenlik gösterdi ve sınırlı sayıdaki monobaktam grubu antibiyotiğe 1 *E.coli* ve 3 *K.pneumoniae* izolatu dirençli saptandı.

PCR ile saptanan GSBL genleri ile bakteri türü dağılımı incelendiğinde; CTX-M pozitif olan 91 izolattan 82'si *E.coli* ve 9'unda *K.pneumoniae*; TEM pozitif olan 57 izolattan 51'i *E.coli* ve 6'sı *K.pneumoniae* ve SHV pozitif olan 70 izolattan 63'ü *E.coli* ve 7'si *K.pneumoniae* olarak tanımlandı. PCR ile saptanan GSBL genleri ile bakteri türlerinin birbirinden bağımsız olduğu belirlendi (Pearson ki kare test istatistiği 0,017 ve bu

Tablo 2. İzolatların PCR ile saptanan GSBL direnç gen profilleri

| Etken | Cinsiyet | GSBL direnç genleri | | | | | | | |
|---------------------|---------------|---------------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|-------------------|
| | | PCR pozitif | | | | | PCR negatif | | |
| | | Yalnız CTX-M | Yalnız TEM | Yalnız SHV | CTX-M / TEM | CTX-M / SHV | TEM / SHV | CTX-M / TEM / SHV | CTX-M / TEM / SHV |
| <i>E.coli</i> | Kadın (N: 63) | 7 | 0 | 0 | 9 | 19 | 6 | 16 | 6 |
| | Erkek (N: 39) | 7 | 2 | 3 | 6 | 8 | 2 | 10 | 1 |
| <i>K.pneumoniae</i> | Kadın (N: 4) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 |
| | Erkek (N: 10) | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 4 |
| Toplam | Kadın (N: 67) | 7 | 0 | 0 | 9 | 20 | 7 | 18 | 6 |
| | Erkek (N: 49) | 9 | 2 | 3 | 7 | 9 | 2 | 12 | 5 |
| | 116 | 16 | 2 | 3 | 16 | 29 | 9 | 30 | 11 |

Tablo 3. GSBL direnç genlerinin (toplam) demografik özelliklere göre dağılımı

| Bakteri türü | Cinsiyet | PCR ile saptanan GSBL direnç genleri | | | Pearson ki kare test sig. değerleri | |
|------------------------|---------------|--------------------------------------|-----|-----|-------------------------------------|--------------------|
| | | CTX-M | TEM | SHV | | |
| 24 yaş ve altı | | | | | | |
| E.coli | Kadın (N: 23) | 19 | 11 | 14 | 0,930 | |
| | Erkek (N: 15) | 10 | 7 | 7 | | |
| K.pneumoniae | Kadın (N: 1) | 1 | 1 | 1 | * | |
| | Erkek (N: 2) | 2 | 2 | 2 | | |
| Toplam | Kadın (N: 24) | 20 | 12 | 15 | 0,934 | |
| | Erkek (N: 17) | 12 | 9 | 9 | | |
| 25–44 yaş arası | | | | | | |
| E.coli | Kadın (N: 16) | 13 | 8 | 12 | * | |
| | Erkek (N: 0) | 0 | 0 | 0 | | |
| K.pneumoniae | Kadın (N: 2) | 2 | 1 | 2 | * | |
| | Erkek (N: 2) | 1 | 1 | 0 | | |
| Toplam | Kadın (N: 24) | 15 | 9 | 14 | * | |
| | Erkek (N: 17) | 1 | 1 | 0 | | |
| 45–64 yaş arası | | | | | | |
| E.coli | Kadın (N: 11) | 8 | 8 | 9 | * | |
| | Erkek (N: 6) | 5 | 2 | 5 | | |
| K.pneumoniae | Kadın (N: 0) | 0 | 0 | 0 | * | |
| | Erkek (N: 1) | 1 | 0 | 1 | | |
| Toplam | Kadın (N: 24) | 8 | 8 | 9 | 0,472 | |
| | Erkek (N: 17) | 6 | 2 | 6 | | |
| 65 yaş ve üzeri | | | | | | |
| E.coli | Kadın (N: 13) | 11 | 5 | 6 | 0,893 | |
| | Erkek (N: 18) | 16 | 10 | 10 | | |
| K.pneumoniae | Kadın (N: 1) | 0 | 1 | 1 | * | |
| | Erkek (N: 5) | 2 | 0 | 0 | | |
| Toplam | Kadın (N: 24) | 11 | 6 | 7 | 0,970 | |
| | Erkek (N: 17) | 18 | 10 | 10 | | |
| Toplam | | | | | | |
| E.coli | Kadın (N: 63) | 51 | 32 | 41 | 0,934 | 0,992 |
| | Erkek (N: 39) | 31 | 19 | 22 | | |
| K.pneumoniae | Kadın (N: 4) | 3 | 3 | 4 | * | |
| | Erkek (N: 10) | 6 | 3 | 3 | | |
| Toplam | Kadın (N: 67) | 54 | 35 | 45 | 0,152 ^a | 0,829 ^b |
| | Erkek (N: 49) | 37 | 22 | 25 | | |

^a CTX-M verilerinin %25'inin 5'den küçük olması nedeniyle Fisher'in kesinlik testi.

^b TEM ve SHV verilerinin 5 ile 25 arasında olması nedeniyle Yates ki kare testi ile elde edildi.

^c Saptanmadı.

istatistiğe ait anlamlılık düzeyi 0,992'dir). Benzer istatistiksel bağımsızlık tanımlanan GSBL direnç genleri için de geçerlidir (CTX-M ile bakteri türleri için Fisher'in kesin test istatistiğine ait anlamlılık düzeyi 0,152; TEM ve SHV ile bakteri türleri için Yates ki kare testi istatistiğine ait anlamlılık düzeyleri sırasıyla 0,829 ve 0,581'dir). *E.coli* bakterilerinde PCR ile saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini

etkilemediğini söylemek mümkündür (Pearson ki kare test istatistiğine ait anlamlılık düzeyi 0,934'tür). Benzer bir ilişki sayısal yetersizlikten dolayı *K.pneumoniae* için hesaplanamadı (Tablo 3). Çalışmada, yaş alt grupları ve bakteri türü kapsamında, PCR ile saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetleri arasındaki ilişki de ele alındı (Tablo 3). Yetersiz örnek hacminden dolayı, 24 yaş ve altı gruptaki hastalar için *K.pneumoniae*, 25–44

yaş arasındaki hastalarda genel ve her iki bakteri türü, 45–64 yaş arasındaki hastalarda her iki bakteri türü ve 65 yaş ve üzeri gruptaki hastalarda tespit edilen *K.pneumoniae* ile ilgili istatistiksel analizler yapılamadı. Yapılan analizlerde ise Pearson ki kare testi sonuçları ile G² test istatistikleri birbirine paralel olduğundan sadece Pearson ki kare testi sonuçlarına göre yorum yapıldı. Buna göre; 24 yaş ve altı gruptaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,934); *E.coli* tespit edilen 24 yaş ve altı gruptaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,930); 45–64 yaş grubundaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,472); 65 yaş ve üzeri yaş grubundaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,970) ve *E.coli* tespit edilen 65 yaş ve üzeri gruptaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,893) belirlendi (Tablo 3).

Tartışma

Üriner sistem enfeksiyonları insanlarda enfeksiyöz hastalıklar içerisinde en sık rastlanan hastalıklardır. Dünya genelinde her yıl yaklaşık 150 milyon yeni üriner sistem enfeksiyonu bildirilmekte ve bunlardan kaynaklanan tedavi giderleri ise yaklaşık 150 milyar dolar olarak hesaplanmaktadır¹⁸. Üriner sistem enfeksiyonları, sepsis gelişmeden ayaktan tedavi edilebilen toplum kaynaklı enfeksiyonlar olabileceği gibi uzun süre hastanede kalan veya immunsupresif bireylerde ortaya çıkan hastane kaynaklı enfeksiyonlar da olabilir. Ayrıca bu enfeksiyonlar genital ve üriner sistemin yapısal ve fonksiyonel bozukluklarının eşlik edip etmediğine göre de komplike veya komplike olmayan şeklinde sınıflandırılır⁵. Komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarında sıklıkla *E.coli* ve takiben *Klebsiella*, *Proteus* ve *Acinetobacter* gibi bakteriler tanımlanmıştır. Komplike olanlarda ise etken çeşitliliği çok daha fazladır. Üriner sistem enfeksiyonlarında hastanın hastanede kalış hikayesine ve komplikasyon durumuna göre değişmek üzere bakteriyel etken izolasyonu %8,7–63 arasında değişkenlik göstermektedir. Bu etkenler arasında *E.coli* neredeyse çalışmaların tamamında dominant tür olarak yer alırken, bunu *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *Proteus* spp., *Acinetobacter* spp., Stafilokok ve Streptokok türleri takip etmiştir^{19–22}. Bu çalışma ile aynı merkezli 2016 yılında yapılan bir araştırmada 7365 idrar örneğinin %18,5'inden bakteriyel

etken izole edilmiş ve izolatların %68,5'i *E.coli*, %4,7'si *Enterococcus* spp. ve %4,5'i *Klebsiella* spp. olarak tanımlanmıştır²³. Bu çalışmada, Yılmaz ve ark.²³ bulgularına benzer nitelikte idrar örneklerinden %19,5'inden bakteriyel etken izolasyonu gerçekleştirilmiş ve *E.coli*, tanımlanan bakteri türleri arasında ilk sırada yer almıştır. Oldukça benzer olan bu veriler eşliğine son birkaç yılda yörede üriner sistem enfeksiyonlu bireylerde bakteriyel etken yaygınlığının yaklaşık %20 olduğuna dair bir genelleme yapmak mümkün gözükmemektedir. Ancak, diğer çalışmalarla kıyaslandığında izolasyon oranındaki önemli farklılıkların temel nedenleri arasında çalışmaların temporal ve spasyal dağılım farklılıkları ve yöntem çeşitlilikleri düşünülmektedir. Ayrıca sadece aerob bakteriyel etken kültürünün yapıldığı bu çalışmadaki izolasyon oranının, farklı atmosferik şartlara adapte olabilen bakteriyel etkenlerin izolasyon oranlarına kıyasla daha düşük olması beklenen bir durumdur.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında halen birçok bakteriyel enfeksiyonun tanısı etken izolasyonu ve identifikasyonunu içeren fenotipik yöntemlere bağlıdır. Fakat yoğun iş gücü ve uzun zaman alan bu yöntemler günümüzde yerini modern otomatize tekniklere bırakmıştır. Otomatize teknikler etken identifikasyonunun yanı sıra antimikrobiyal duyarlılıkları test edilebilen hızlı ve kolay uygulanabilir yöntemlerdir²⁴. Bu kapsamda birçok araştırma ve hastane laboratuvarlarında Phoenix, Vitek 2, MicroScan, MALDI-TOF MS gibi otomatize sistemlerden faydalanılmaktadır^{25,26}. Phoenix sistemi, bir seri konvansiyonel, kromatojenik ve florojenik biyokimyasal maddeler ile 100'e yakın bakterinin hızlı tanımlanmasını sağlayan ve antibiyotik duyarlılıklarını belirleyen güvenilir bir araç olarak tanımlanmıştır²⁷. Ayrıca bu sistem CLSI standartlarını esas alarak klavulanik asitli veya klavulanik asit olmadan seçilen çeşitli sefalosporinlere karşı bakterinin üreme yanıtını kullanarak bakterilerin GSBL özelliklerini de belirleyebilmektedir. Bu özellikleri sayesinde Phoenix, *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında rastlanan GSBL, AmpC beta-laktamazlar ve *K.pneumoniae* karbapenemazlar (KPC) gibi direnç özelliklerini belirleyebilmektedir. Bu sistem, GSBL ürettiği genotipik olarak doğrulanan suşların %90'ından daha büyük kısmında GSBL üretimini saptayabilmektedir²⁸. Benzer tanılal üstünlükleri CLSI ve EUCAST tarafından optimize edilen yöntemlerle de kıyaslanarak kanıtlanmıştır^{28–30}. *E. coli* ve *Klebsiella* türlerinde GSBL aktivitesinin test edildiği bir çalışmada %89 tanılal doğruluğu ile Phoenix otomatize sistemler arasında GSBL'yi saptamada en iyi performansa sahip sistem olarak kabul

edilmiştir.²⁹ Phoenix'in mikroorganizmaların GSBL özelliklerinin taranmasında yüksek sensitivite ve nispeten ılımlı spesifitesini gösteren birçok çalışma bildirilmiştir.^{28,30} Bu çalışmada, Mac Conkey agarda pozitif laktoz aktivitesi saptanan ve Gram negatif morfolojiye sahip bakteri ön tanısı almış 900 izolatın Phoenix ile identifikasyonu ve antimikrobiyal madde duyarlılıkları test edilmiştir. Fakat GSBL aktivitesinin belirlenmesinde başvurulabilecek referans fenotipik yöntemler (dilüsyon veya difüzyon yöntemleri) bu çalışmada kullanılmadığı için Phoenix GSBL'lerin saptanmasındaki etkinliğini tam olarak karşılaştırma imkânı olmamıştır. Ancak GSBL üretiminde sorumlu yaygın gen bölgelerinin (CTXM, TEM ve SHV) PCR ile analizi gerçekleştirilmiş ve Phoenix ve PCR'nin GSBL'leri saptamadaki yeterlilikleri karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

Üriner sistem enfeksiyonlarından tanımlanan bakterilerdeki GSBL üretimi sosyokültürel yapı, çalışılan coğrafya ve çalışılan zaman dilimine göre farklılık göstermektedir. Vakaların toplum/hastane kaynaklı oluşu veya komplikasyonlu/komplikasyonsuz oluşuna göre de GSBL pozitifliği artmaktadır.²⁰ Arana ve ark.³² tarafından İspanya'da gerçekleştirilen bir çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarında GSBL üretkenliğinin son sekiz yıldaki artışı oldukça dikkat çekicidir. Türkiye'de 2013 yılında yapılan bir meta-analizde idrar kültürlerinden izole edilen *E.coli*'lerde GSBL pozitifliği %20'nin altında bildirilmesine³³ rağmen son dönemlerde hem *E.coli* hem de *K.pneumoniae*'de GSBL üretiminde bir artış söz konusudur.^{21,34,35} Bu çalışmada izolatların Phoenix AST ile yapılan analizleri sonucu 120 (%13,33)'sinin GSBL aktivitesi olduğu saptanmıştır. İdrar örneklerinde toplam GSBL pozitifliği %2,4, bakteri düzeyinde ise *E.coli* için %2,04 ve *K.pneumoniae* için %0,28 olarak saptanmıştır. Dünya genelinde^{20,32} ve ülkemizde^{21,34,35} gerçekleştirilen çalışmalarla kıyaslandığında hem toplam hem de bakteri türü için GSBL pozitifliği oldukça düşük kalmıştır. Bunun nedeni olarak yörede idrar yolları enfeksiyonlarından sorumlu olan *E.coli* ve *K.pneumoniae* bakterilerinin GSBL üretkenliklerinin düşük olma olasılığı sayılabilir. Bu durum, idrar yolları enfeksiyonlarında doğru ve akılcı ilaç kullanımının bir yansıması olabilen çoklu ilaç direnci hatta GSBL direncine imkân verecek mutasyonların olmadığı suşların varlığına işaret eder. Ayrıca GSBL pozitifliğindeki oransal farklılıklar, bu çalışmada benzer bir kategorik sınıflandırmanın yapılmadığı olguların enfeksiyon orijinleriyle (hastane kaynaklı veya toplum kaynaklı)^{32,34} ve komplikasyon durumlarıyla²⁰ yakından ilişkilidir.

Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz üretiminden sorumlu genlerin tanımlanması, direnç epidemiyolojisinin aydınlatılması ve buna bağlı geliştirilecek uygun tedavi ve korunma stratejilerinin planlanması açısından önemlidir. *E.coli* ve *K.pneumoniae* türlerinde GSBL enzimleri genellikle plazmid kaynaklı CTX-M, TEM ve SHV gibi genler tarafından kodlanmakta ve bu enzimler özellikle sefalosporinler olmak üzere monobaktamlar, penisilinler ve hatta karbapenemlere karşı dirence yol açmaktadır.³⁶ Dünya genelinde ve ülkemizde GSBL enzimlerini kodlayan genlere sahip *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının bildirimleri her geçen gün artmaktadır. Bunlar içerisinde birçok varyant ile CTX-M'ler en yaygın GSBL genleri olarak yer almaktadır.^{6,37,38} Bu çalışmada GSBL pozitif 116 izolat içerisinde en yaygın direnç geni 91 (%78,45) izolatta (82 *E.coli* ve 9 *K.pneumoniae*) saptanan CTX-M olup, bunu 70 (%60,34) izolat (63 *E.coli* ve 7 *K.pneumoniae*) ile SHV ve 57 (%49,14) izolat (51 *E.coli* ve 6 *K.pneumoniae*) ile TEM izlemiştir. Bakteri düzeyinde bakıldığında CTX-M yine en yaygın gen olarak belirlenmiştir. Diğer çalışmalarla kıyaslandığı GSBL üretiminden sorumlu olan genlerde oransal farklılıklar olsa da bu bulgular direnç genleri içerisinde en yaygın genin CTX-M olduğunu ifade eden birçok çalışma ile benzer niteliktedir.^{6,37,38} Bunun olası nedeni olarak CTX-M türü genlerin horizontal yollarla daha yaygın aktarılabilirlikleri ve hızlı yayılım özellikleri düşünülebilir. GSBL pozitif olgularda birden fazla direnç genini barındıran *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatları da bildirilmiştir.^{6,37} Bu çalışmada da diğer çalışmalara^{6,37} benzer nitelikte GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında CTX-M ve TEM'nin birlikte pozitifliği %13,79, CTX-M ve SHV'nin birlikte pozitifliği %25, TEM ve SHV'nin birlikte pozitifliği %7,76 ve her üç genin birlikte pozitifliği %25,86 olarak belirlenmiştir. GSBL pozitifliğinden sorumlu olan bu gen aranjmanındaki farklılıklarla ilgili daha detaylı bir yorum yapmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, Phoenix ile GSBL pozitif saptanmasına rağmen 11 (%9,48) izolatta (7 *E.coli* ve 4 *K.pneumoniae*) PCR ile aranan gen bölgeleri bulunamamıştır. Bu durum, bu suşlarda analiz edilmeyen fakat ekspresyonunun ve dolayısıyla fenotipik yansımasının sorunsuz olduğu GSBL pozitifliğinin diğer genlerden (OXA, PER, GES gibi) kaynaklı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Antibiyotik dirençliliği üriner sistem enfeksiyonlarının sağaltımında oldukça önemli bir klinik problemdir. Bu enfeksiyonlara yol açan GSBL üreten *Enterobacteriaceae* etkenleri birçok antibiyotiğe eş

zamanlı direnç göstermişlerdir³⁹. GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarından ileri gelen enfeksiyonların tedavisinde genellikle sefalosporinlerin faydasız olduğu, karbapenemlerin ise tercih edilebilir başlıca antibiyotikler olduğu ileri sürülmüştür^{7,34,35}. Bu bakterilerin penisilin, ampisilin, amoksisilin-klavulonat ve piperasilin-tazobaktam gibi antibiyotiklere karşı reaksiyonları ise değişkenlik göstermiştir^{7,34,35}. Bu çalışmada GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %57,46 olarak belirlenmiş, duyarlılık bakımından bakteri türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. GSBL pozitifliğindeki farklılıkların nedenleri arasında çalışılan lokasyon, çalışma yılı ve örneklerin alındığı bireylerdeki demografik ve klinik farklılıklar sayılabilir. Ayrıca birçok çalışmada GSBL pozitifliğine *E.coli* ve *K.pneumoniae* harici bakterilerin katkı sağladığı da açıklar^{30,34}. *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarında en yaygın (%92,53) dirençlilik sefalosporinlere karşı saptanırken, en duyarlı (%47,1) antibiyotikler karbapenemler olmuştur. Bakteri düzeyinde bakıldığında, GSBL pozitif *E.coli* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %55,97 ve GSBL pozitif *K.pneumoniae* izolatlarının ise %67,41 olarak saptanmıştır. *E.coli* izolatlarında en yaygın dirençlilik penisilinlere, *K.pneumoniae* izolatlarında ise monobaktamlara karşı saptanmıştır. Her iki bakterinin de en duyarlı olduğu antibiyotik grubu Imipenem ve Meropenem başta olmak üzere karbapenemler saptanmıştır. Bu bulgular, GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının hem birlikte hem de bakteri düzeyinde bildirilen^{7,34,35} beta laktam grubu antibiyotiklere olan *in vitro* yanıtlarına oldukça benzer niteliktedir. GSBL pozitif suşlarda sefalosporinlere karşı artan direncin bu ilaçların gelişigüzel kullanımına bağlı şekillenmiş olabileceği düşünülmektedir.

GSBL kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının insidensinin artışında yaş, cinsiyet ve etnik yapı gibi demografik özelliklerin yanı sıra, antibiyotik kullanımı, hastanede uzun süre yatış, idrar yollarının kateterizasyonu ve cerrahi operasyonu gibi predispozisyon oluşturacak birçok faktör bildirilmiştir^{40,41}. GSBL pozitif suşlarla ilişkili risk faktörlerinin değerlendirilmesi bu etkenlerden kaynaklanacak komplikasyonların önlenmesi açısından önem arz etmektedir. Bu çalışmada, GSBL pozitifliğinin demografik özelliklerle karşılaştırılmasında Phoenix ile elde edilen veriler dikkate alınmıştır. Yaşlılık GSBL pozitifliğinde bağımsız bir risk faktörü olarak görülmekte⁴⁰ ve ileri yaştaki bireylerde uygunsuz ve artan antimikrobiyal ilaç kullanımına paralel olarak

artmaktadır^{42,43}. Benzer durum bu çalışmada da bildirilmiş ve 65 ve üzeri yaş grubu bireylerde yüksek oranda (%31,9) GSBL pozitifliği elde edilmiştir. Bakteri düzeyinde ise bu dağılım değişkenlik göstermektedir. Cinsiyet, GSBL pozitif etkenlerden kaynaklanan üriner sistem enfeksiyonlarında önemli bir belirleyicidir. GSBL üreten etkenler, erkeklerde prostat salgıları ve uzun uretra yapısı gibi bariyerleri kolaylıkla aşabilmekte ve üriner sisteme daha kolay penetre olabilmektedir⁴²⁻⁴⁴. Fakat GSBL pozitifliğinde kadın dominantlığının olduğu çalışmalar da mevcuttur^{45,46}. Bu çalışmada GSBL pozitifliği saptanan bireylerin 67 (%57,76)'si kadın ve 49 (%42,24)'u erkeklerden oluşmaktaydı ve GSBL pozitifliği ile cinsiyet (kadın) arasında %21,9 oranında anlamlı bir ilişki saptandı. Benzer bir ilişki (%66,7 pozitiflik) 25-44 yaş alt grubundaki bireylerde de saptanmıştır. Fakat *E.coli* bakterisi için PCR ile saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetleri birbirinden bağımsızdır ($p > 0,05$). Bu bulgular, GSBL pozitifliği ile cinsiyet arasında erkek hastalardaki pre-dominantlığı bildiren çalışmalardan⁴²⁻⁴⁴ farklılık göstermektedir. Fakat benzer durum %71,43'ünün erkek bireylerden elde edildiği GSBL pozitif *K.pneumoniae* izolatları için söylenemez.

Sonuç olarak, Kars yöresinde idrar yolları yakınması ile başvuran bireylerde GSBL pozitifliği düşük (%2,4) oranlarda saptanmasına rağmen, bu oranın gelişigüzel antibiyotik kullanımının yaygın olduğu ülkemizde bu sınırlarda kalacağı anlamına gelmemelidir. Saptanan GSBL genleri ile bakteri türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili olmasa da GSBL pozitif izolatların en dirençli olduğu beta laktam antibiyotikler penisilin ve sefalosporinler olmuştur. İzolatların karbapenem duyarlılıkları ise ilk sırada yer almıştır. Ampirik ilaç kullanımına bağlı GSBL pozitifliğinde meydana gelebilecek artış veya mutasyonel durumlar şu an en etkili antibiyotikler olan karbapenemlerin etkinliğini ilerleyen yıllarda olumsuz etkileyebilir. Gelişigüzel ilaç kullanımının engellenmesinin yanı sıra risk faktörlerinin azaltılması GSBL pozitif etkenlerden kaynaklanacak enfeksiyonların insidensini önemli ölçüde azaltacaktır.

Üriner sistem enfeksiyonlarında prognozun iyileştirilmesinin en iyi yolu tedavinin idrar kültürü sonuçlarına göre yapılmasıdır. Ayrıca yöreye özgü etken profilinin çıkarılması, GSBL modellerinin belirlenmesi ve bu modellerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi tedavide başarı şansını artırmaktadır. Bakterilerde bu tür envanterin çıkarılmasında

konvansiyonel ve otomatize yöntemler başarıyla kullanılmaktadır. Nitekim bu çalışmada idrar yolları yakınması ile başvuran bireylerden kültüre edilen idrar örneklerinden BD Phoenix™ 100 otomatize sistemi ile etken identifikasyonu gerçekleştirilmiş, antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş ve izolatların 120 (%13,33)'inde GSBL aktivitesi saptanmıştır. Tanımlanan *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının 105'inde PCR ile bir veya daha fazla gen bölgesi saptanmış ve böylelikle GSBL tanısında PCR'nin sensitivitesi %90,52 olarak hesaplanmıştır. Kapsamlı veri sağlayan otomatize sistemler tanı ve araştırma laboratuvarlarında avantajlı olsa da bu çalışmada olduğu gibi zaman, performans ve ekonomik yönden avantajlı oluşu ile PCR'nin GSBL'lerin tanısında fayda sağlayacağı öngörülebilmektedir. Bu çalışma, sınırlı bir lokasyonda, Kars yöresinde, üriner sistem enfeksiyonlarına yol açan GSBL pozitif etkenlerin profillerinin, antibiyotik duyarlılıklarının ve GSBL üretimiyle ilgili gen dağılımlarının belirlendiği ve tüm bu modellerle hastaların demografik özelliklerinin karşılaştırıldığı ilk sistematik çalışmadır. Elde edilen bu lokal bulguların GSBL için tanımlanan global epidemiyolojik verilerden çok farklı olmadığı saptanmıştır. Yine de farklı orijin ve komplikasyonlara sahip bireylerden elde edilecek mikroorganizmaların GSBL pozitifliğinin irdelenmesi ve filogenetik modellerinin belirlenmesine yönelik yapılacak yeni çalışmaların bu etkenlerin evrimi hakkında daha fazla bilgi edinmeye olumlu katkılar sağlayacağı umulmaktadır.

Kaynaklar

1. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980;289:321–31.
2. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *J Hosp Infect* 2009;73:345–54.
3. Calbo E, Garau J. The changing epidemiology of hospital outbreaks due to ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*: The CTX-M-15 type consolidation. *Future Microbiol* 2015;10:1063–75.
4. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill* 2008;13:19044.
5. Kadanalı A. Üriner sistem enfeksiyonları. *Eurasian J Med* 2006;38:119–23.
6. Bektaş A, Gündücuoğlu H, Gürsoy NC, Berktaş M, Gültepe BS, Parlak M, ve ark. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının GSBL genlerinin araştırılması. *FLORA* 2018;23:116–23.
7. Gholipour A, Soleimani N, Shokri D, Mobasherizadeh S, Kardi M, Baradaran A. Phenotypic and molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase produced by *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* isolates in an educational hospital. *Jundishapur J Microbiol* 2014;7: e11758.
8. Lim YK, Lee MK, Kim TH. Management of extended-spectrum beta-lactamase-positive Gram-negative bacterial urologic infections. *Urogenit Tract Infect* 2015;10:84–91.
9. Rodriguez-Bano J, Gutierrez-Gutierrez B, Machuca I, Pascual A. Treatment of infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-, AmpC-, and carbapenemase producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev* 2018;31: e00079–17.
10. Arda M. Temel Mikrobiyoloji 2011. Medisan Yayınevi, 4. Baskı, Ankara.
11. Marmur J. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. *J Mol Biol* 1961;3:208–18.
12. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Chemother Agent* 2003;47:3724–32.
13. Hosoglu S, Gundes S, Kolaylı F, Karadenizli A, Demirdağ K, Günaydın M, et al. Extended spectrum β -lactamases in ceftazidime resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Turkish hospitals. *Indian J Med Microb* 2007;25:346–50.
14. Arlet G, Rouveau M, Philippon A. Substitution of alanine for aspartate at position 179 in the SHV-6 extended-spectrum-lactamase. *FEMS Microbiol Lett* 1997;152:163–7.
15. Arıcıgil Çilan Ç. Sosyal Bilimlerde Kategorik Verilerle İlişki Analizi 2013. Pegem Akademi, 2. Baskı, Ankara.
16. Karagöz Y. İlişki katsayıları ile öğrenci başarısını etkileyen faktörlerin belirlenmesi. *Elektronik Sosyal Bilimler Dergisi* 2010;9:425–46.
17. United Nations. Provisional Guidelines on Standard International Age Classifications 1982. United Nations Publication, Sales no. E 82. XVII 5. New York: United Nations.
18. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: Disease panorama and challenges. *J Infect Dis* 2001;183: S1–4.
19. Amin M, Mehdinejad M, Pourdangchi Z. Study of bacteria isolated from urinary tract infections and determination of their susceptibility to antibiotics. *Jundishapur J Microbiol* 2009;2:118–23.
20. Begum SA, Afreen S, Ahamed F, Chowdhury A, Jobayer M, Samsuzzaman SM. Etiology of UTI and frequency of ESBL producing bacteria isolated from patients of Dhaka Medical College Hospital with their antimicrobial susceptibility pattern. *J Dhaka Med Coll* 2016;25:26–31.
21. Mert D, Çeken S, Ertek M. İdrar yolu enfeksiyonlarında kültürden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2020;77:25–32.
22. Mollick S, Dasgupta T, Hasnain J, Ahmed M. Isolation and characterization of pathogens responsible for urinary tract infection in Bangladesh and determination of their antibiotic susceptibility pattern. *J Appl Pharm Sci* 2016;6:72–6.

23. Yılmaz Y, Tazegun ZT, Aydin E, Dulger M. Bacterial uropathogens causing urinary tract infection and their resistance patterns among children in Turkey. *Iran Red Crescent Med J* 2016;18:e26610.
24. Carroll KC, Weinstein MP. Manual and Automated Systems for Detection and Identification of Microorganisms, pp:192–217. In: Murray PR (ed), *Manual of Clinical Microbiology* 2007, 9th ed. ASM Press, Washington, DC.
25. Marucco AP, Minervini P, Snitman GV, Sorge A, Guelfand LI, Moral LL, et al. Comparison of the identification results of *Candida* species obtained by BD Phoenix™ and Maldi-TOF (Bruker Microflex LT Biotyper 3 1). *Rev Argent Microbiol* 2018;50:337–40.
26. Snyder JW, Munier GK, Johnson CL. Direct comparison of the BD Phoenix System with the MicroScan WalkAway System for identification and antimicrobial susceptibility testing of Enterobacteriaceae and nonfermentative Gram-negative organisms. *J Clin Microbiol* 2008;46:2327–33.
27. Swati M, Balasubramanian U. Comparison of BD Phoenix Automated System with conventional methods for identification & susceptibility testing of common bacteria. *Int J Sci Res* 2017;6:252–5.
28. Sanguinetti M, Posteraro B, Spanu T, Ciccaglione D, Romano L, Fiori B, et al. Characterization of clinical isolates of Enterobacteriaceae from Italy by the BD Phoenix extended-spectrum beta-lactamase detection method. *J Clin Microbiol* 2003;41:1463–8.
29. Leverstein-van HMA, Fluit AC, Paauw A, Box ATA, Brisse S, Verhoef J. Evaluation of the Etest ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum β -lactamases in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol* 2002;40:3703–11.
30. Wiegand I, Geiss HK, Mack D, Stürenburg E, Seifert H. Detection of extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae by use of semiautomated microbiology systems and manual detection procedures. *J Clin Microbiol* 2007;45:1167–74.
31. Doi Y, Park YS, Rivera JI, Adams-Haduch JM, Hingwe A, Sordillo EM, et al. Community-associated extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* infection in the United States. *Clin Infect Dis* 2013;56:641–8.
32. Arana DM, Rubio M, Alós JI. Evolution of antibiotic multiresistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from urinary tract infections: A 12-year analysis(2003–2014). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2017;35:293–8.
33. Aykan SB, Ciftci IH. Türkiye’de idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: Bir meta-analiz. *Mikrobiyol Bul* 2013;47:603–18.
34. Çelikkilek N, Gözalan A, Özdem B, Kırca F, Açıkgöz ZC. Ayaktan başvuran hastaların idrar kültürlerinde üretilen Enterobacteriaceae izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi: Yedi yıllık izlem sonuçları. *Mikrobiyol Bul* 2015;49:259–65.
35. Temoçin F, Köse H. Poliklinik hastalarının idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretim oranları ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *ANKEM Derg* 2018;32:79–86.
36. Sid Ahmed MA, Bansal D, Acharya A, Elmi AA, Hamid JM, Sid Ahmed AM, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae from intensive care units at Hamad Medical Corporation, Qatar. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016;5:2–6.
37. Elhassan MM, Ozbazk HA, Hemeg HA, Ahmed AA. Dissemination of CTX-M extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Al-Madenah Al-Monawwarah region, Saudi Arabia. *Int J Clin Exp Med* 2016;9:11051–7.
38. Tutun H, Karagöz A, Altıntaş L, Koçak N. Determination of antibiotic susceptibility, ESBL genes and pulsed-field gel electrophoresis profiles of extended-spectrum β -lactamase-containing *Escherichia coli* isolates. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2019;66:407–16.
39. Peterson DL, Bonomo RA. Extended spectrum beta-lactamases: A clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:657–86.
40. Calbo E, Romani V, Xercavins M, Gomez L, Vidal CG, Quintana S, et al. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:780–3.
41. Ortega M, Marco F, Soriano A, Almela M, Martinez JA, Munoz A, et al. Analysis of 4758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: Predictive factors for isolation of an antibiotic-resistant strain and their impact on the outcome. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:568–74.
42. Karamanlioğlu D, Aysert-Yıldız P, Kaya M, Sarı N. Extended-spectrum β -lactamase production rates and antibiotic susceptibilities among Enterobacteriaceae isolated from urine. *Klimik Derg* 2019;32:233–9.
43. Mahesh E, Ramesh D, Indumathi VA, Punith K, Raj K, Anupama HA. Complicated urinary tract infection in a tertiary care center in South India. *Al Ameen J Med Sci* 2010;3:120–7.
44. Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Hameed A. Extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae: Related to age and gender. *New Microbiol* 2002;25:363–6.
45. Al-Garni SM, Ghonaim MM, Ahmed MMM, Al-Ghamdi AS, Ganai FA. Risk factors and molecular features of extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria at southwest of Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2018;39:1186–94.
46. Marković T, Jeinić L, Smitran A, Petković M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase producing urinary isolates of *Escherichia coli* in outpatients. *Srp Arh Celok Lek* 2013;141:775–9.